

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 28.02.2020 г. № 2
о присуждении Мамченковой Полине Владимировне, гражданину РФ, ученой
степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Трансформация селенит-ионов бактериями рода *Azospirillum* с образованием наночастиц селена» по специальностям 03.02.03 – микробиология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 27.12.2019 г., протокол № 17 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании № 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Мамченкова Полина Владимировна, 1990 г. рождения, в 2014 г. окончила Биологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности «биология». С 2017 по 2019 гг. П.В. Мамченкова обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук по направлению 03.01.04 – «биохимия»; работает младшим научным сотрудником лаборатории биохимии в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биохимии и физиологии растений и

микроорганизмов Российской академии наук, а также инженером в Центре коллективного пользования «Симбиоз» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук.

Научные руководители – кандидат биологических наук (специальность 03.02.03 – микробиология) Тугарова Анна Владимировна, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, лаборатория биохимии, старший научный сотрудник; доктор химических наук (специальность 02.00.04 – физическая химия) Камнев Александр Анатольевич, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, лаборатория биохимии, профессор, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Белимов Андрей Алексеевич, доктор биологических наук (специальность 03.02.03 – микробиология), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, лаборатория ризосферной микрофлоры, главный научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией,

Кокшарова Ольга Алексеевна, доктор биологических наук (специальность 03.02.07 – генетика), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, отдел фотобиофизики, лаборатория электрогенных фотопроцессов, ведущий научный сотрудник,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, в своем положительном заключении, подписанном Кратасюк Валентиной Александровной, доктором биологических наук, профессором, кафедра биофизики, заведующая кафедрой, указала, что диссертационная работа Мамченковой П.В. представляет собой полноценное законченное научное исследование, соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842; в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018) для диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, а сам диссертант заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 – микробиология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет **19** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано **19** работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **4** работы. Общий объем работ – 3,2 п. л.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Tugarova, A.V. FTIR and Raman spectroscopic studies of selenium nanoparticles synthesised by the bacterium *Azospirillum thiophilum* / A.V. Tugarova, **P.V. Mamchenkova**, Yu.A. Dyatlova, A.A. Kamnev // Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc. – 2018. – Vol. 192. – P. 458–463. Web of Sci.: **IF = 2,931; Q1; Scopus: Цит.=7.**

2. Tugarova, A.V. Biochemical study of selenite bioconversion by *Azospirillum brasilense* / A.V. Tugarova, **P.V. Mamchenkova**, Y.A. Dyatlova, A.A. Kamnev // FEBS Open Bio. – 2018. – Vol. 8. – Suppl. 1. – P. 479–480. Web of Sci.: **IF = 1,959; Q4; Scopus: Цит.=0.**

3. Tugarova, A.A. Bacteria as cell factories for producing selenium nanoparticles: their synthesis by the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* and characterization / A.A. Tugarova, **P.V. Mamchenkova**, Y.A. Dyatlova, A.A. Kamnev // New Biotechnol. – 2018. – Vol. 44S. – P. S18. Web of Sci.: **IF = 3,739; Q1; Scopus: Цит.=0.**

4. Kamnev, A.A. FTIR spectroscopic studies of selenite reduction by cells of the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* Sp7 and the formation of selenium

nanoparticles / A.A. Kamnev, **P.V. Mamchenkova**, Yu.A. Dyatlova, A.V. Tugarova // J. Mol. Struct. – 2017. – Vol. 1140. – P. 106–112. Web of Sci.: **IF = 2,120; Q3; Scopus: Цит.=13.**

На диссертацию и автореферат поступило **7** положительных отзывов от:

(1) д-ра биол. наук **Алексея Ханифовича Баймиева**, заведующего лабораторией биоинженерии растений и микроорганизмов Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа – без замечаний;

(2) д-ра хим. наук, профессора **Зуева Юрия Федоровича**, заведующего лабораторией биофизической химии наносистем Казанского института биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань – без замечаний;

(3) д-ра физ.-мат. наук, профессора **Кудряшевой Надежды Степановны**, ведущего научного сотрудника лаборатории фотобиологии Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального исследовательского центра Красноярского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, г. Красноярск – без замечаний;

(4) д-ра биол. наук **Марковой Юлии Александровны**, заведующего лабораторией растительно-микробных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск – без замечаний;

(5) д-ра хим. наук, профессора **Решетилова Анатолия Николаевича**, заведующего лабораторией биосенсоров Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН – обособленного подразделения Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», г. Пущино – без замечаний;

(6) д-ра биол. наук **Феофанова Алексея Валерьевича**, заведующего лабораторией оптической микроскопии и спектроскопии биологических молекул Института биоорганической химии имени академиком М.М. Шемякина и

Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва, содержит вопросы: 1) с какими компонентами, по мнению автора, могут взаимодействовать карбоксильные группы, которые, по данным ИК-спектроскопии (с. 15), слабо связаны с поверхностью наночастиц селена? 2) Не пытались ли авторы получить спектры КР для клеток после обработки КЦХФ, чтобы подтвердить наличие кристаллических форм селена (с. 17–18, рис. 9Б)? (7) д-ра биол. наук **Фахруллина Равиля Фаридовича**, главного научного сотрудника научно-исследовательской лаборатории «Бионанотехнологии» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, г. Казань, и канд. Биол. наук **Конновой Светланы Анатольевны**, старшего научного сотрудника той же лаборатории, содержит вопросы: «Возможно ли / была ли количественно оценена конечная концентрация Se-НЧ, образованных бактериями рода *Azospirillum* для получения наночастиц селена? Чем обусловлен выбор для проведения дальнейших исследований (электрофоретическое и иммунохимическое исследование, ИК-фурье-спектроскопия, анализ метаболической активности клеток HeLa и др.) Se-НЧ, синтезированных с помощью штаммов *A. brasilense* Sp7 и *A. thiophilum* BV-S? Было ли проведено исследование по индукции синтеза белков клеточной поверхности бактерий и периплазмы в присутствии селенита у штаммов *A. brasilense* Sp7 и *A. thiophilum* BV-S? Если было проведено, то какой результат показал?»

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор биологических наук **Белимов Андрей Алексеевич** является признанным специалистом в сфере микробиологии ризосферных микроорганизмов, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Мамченковой П.В. (**Water Air Soil Pollut.** – 2015. – Vol. 226. – Article 264 (15 pp.); **Ann. Appl. Biol.** – 2015. – Vol. 167. – P. 11–25; **Antonie van Leeuwenhoek.** – 2015. – Vol. 107. – P. 911–920; **Сельскохозяйственная биология.** – 2015. – Т. 50. – N 5. – С. 655–664; **Funct. Plant Biol.** – 2016. – Vol. 43. – P. 161–172; **Генетика.** – 2017. – Т. 53. – С. 795–804; **Int. J. Syst. Evol. Micr.** – 2017. – Vol. 67. – N. 1. – P. 94–100; 2017. – Т. 67. – N. 1. – С. 94. – 100; 2018. – P. 1644 – 1651; **FEBS Open Bio.** – 2018. – Vol. 8. – N. S1. – P. 471; **Сельскохоз. Биол.** – 2018. – Т. 53. – N. 6. – С. 1285–1293; **Biotech.** – 2019. – Vol. 9. – P. 94; **Front. Microbiol.** – 2019. – Vol. 10. – P. 514);

доктор биологических наук **Кокшарова Ольга Алексеевна** является специалистом в области нанотехнологии и биотехнологии и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Мамченковой П.В. (**Биотехнол.** – 2018. – Т. 34. – N. 1. – С. 62–71; **Рос. Нанотехнол.** – 2018. – Т. 13. – N. 7–8. – С. 88–91; 2016. – Т. 11. – N. 5–6. – С. 87–89; **Photosynt. Res.** – 2017. – Vol. 133. – N. 1–3. – P. 175–184; **Arpmis.** – 2016. – Vol. 124. – N. 7. – P. 586–594; **Микробиол.** – 2016. – Т. 85. – N. 1. – С. 42–49; **BioMed. Res. Int.** – 2015. – Article 202597 (16 pp.).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области нанотехнологии и нанобиотехнологии с использованием бактерий, наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Мамченковой П.В. (**Докл. Акад. наук.** – 2019. – Т. 489. – N. 1. – С. 103–107; 2019. – Т. 486. – N. 4. – С. 500–503; 2019. – Т. 485. – N. 2. – С. 229–233; 2018. – Т. 479. – N. 4. – С. 460–463; 2017. – Т. 472. – N. 5. – С. 596–599; **Int. J. Biol. Macromol.** – 2019. – Vol. 131. – P. 691–696; **Prot. Struct. Funct. Bioinform.** – 2019. – Vol. 87. – N. 9. – P. 723–729; **Allergy.** – 2019. – Vol. 74 (S106). – P. TP0663; **J. Nanopart. Res.** – 2018. – Vol. 20. – N. 4. – Art. 107; **Цитология.** – 2018. – Т. 60. – N. 10. – С. 847–850; **Helicobacter.** – 2018. – Vol. 23 (S1). – P. 12525–0502; **J. Sib. Fed. Univ. Biol.** – 2018. – Vol. 11. – N. 2. – P. 174–180; **Mol. Catal.** – 2018. – Vol. 458. – Part A. – P. 60–66; **Вестн. Дальневост. Отд. Росс. Акад. Наук.** – 2018. – N. 6. – С. 89; **Anal. Chim. Acta.** – 2017. – Vol. 971. – P. 1–13; **J. Sib. Fed. Univ. Biol.** – 2017. – Vol. 10. – N. 2. – P. 187–198; **Toxicol. In Vitro.** – 2017. – Vol. 45. P. 128–133; **Biosens. Bioelectron.** – 2017. – Vol. 87. – P. 918–930; **Polym. Bull.** – 2016. – Vol. 73. – N. 12. – P. 3421–3435), а также наличием ученых, являющихся безусловными специалистами по теме диссертации Мамченковой М.В.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана оригинальная методика синтеза наночастиц элементарного селена с экстраклеточной локализацией бактериями рода *Azospirillum*, применимая также для других бактерий;

предложена простая процедура выделения и очистки наночастиц с использованием центрифугирования и фильтрования;

доказано, что размер и однородность наночастиц зависят от плотности бактериальной культуры и начальной концентрации селенит-ионов в среде, а в процесс формирования селеновых наночастиц включаются биологические макромолекулы;

введены основные принципы бактериального синтеза внеклеточных наночастиц селена и простые приемы очистки этих наночастиц.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что бактерии рода *Azospirillum* (*A. formosense* CC-Nfb-7, *A. picis* IMMIB TAR-3, *A. halopraeferens* Au4, *A. palatum* ww 10, *A. zeae* N7, *A. thiophilum* BV-S и *A. lipoferum* Sp59b) способны к восстановлению селенит-ионов до Se^0 в виде наночастиц селена, при этом наибольшая устойчивость из всех исследованных видов азоспирилл к токсическому действию селенит-ионов выявлена у *A. thiophilum* BV-S;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования: микробиологических (культивирование бактерий, определение влияния селенита на жизнеспособность), биохимических (выделение белков, денатурирующий электрофорез, определение скорости ферментативной реакции), иммунохимических (дот-блот- и иммуноферментный анализ), молекулярно-спектроскопических (ИК-фурье-спектроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния), также ряд других методов: динамического рассеяния света, просвечивающей электронной микроскопии, МТТ-теста;

изложены принципы и зависимости, определяющие возможность синтеза экстраклеточных наночастиц селена бактериями с возможностью регулирования их размера и однородности по размерам;

раскрыты механизмы восстановления селенит-ионов у азоспирилл: участие в этом процессе протон-зависимого транспорта и системы денитрификации, а также несущественная роль редокс-системы глутатиона;

изучены свойства полученных с помощью *A. brasilense* Sp7 и *A. thiophilum* BV-S наночастиц селена и описан предполагаемый механизм их образования;

проведено исследование влияния селенит-ионов на бактерии рода *Azospirillum* семи видов: *A. formosense*, *A. picis*, *A. halopraeferens*, *A. palatum*, *A. zeae*, *A. thiophilum* и *A. lipoferum*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены материалы для учебной программы аспирантуры Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук - при чтении лекций и выполнении практических занятий курса «Спектроскопические методы в биохимии и микробиологии» (Справка № 106-01-1.2-505 от 22.11.2019 г.) – учрежденческий уровень внедрения;

определены перспективы для практического использования бактерий рода *Azospirillum* в биоремедиации загрязненных селеном земель и водоемов; возможность использования разработанной схемы для получения наночастиц селена с помощью бактерий для биотехнологических приложений;

создана система практических рекомендаций по регулированию бактериального синтеза селеновых наночастиц в биотехнологических приложениях;

представлены модель синтеза и общая методологическая схема получения наночастиц селена с использованием бактерий для практического использования этого процесса.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

результаты получены на сертифицированном оборудовании, воспроизводимость результатов проверена в различных условиях с необходимым количеством повторов;

идея диссертационного исследования о трансформации селенит-ионов биотехнологически значимыми бактериями рода *Azospirillum* и получения с помощью этих бактерий Se-наночастиц опирается на анализ имеющихся в научной литературе экспериментальных и теоретических данных, обобщении опыта ведущих исследовательских групп по изучению и применению бактериально синтезируемых наночастиц в бионанотехнологии;

установлена частичная корреляция полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными независимых зарубежных авторов, в части - изучения механизмов восстановления оксоанионов селена различными бактериями и характеристики свойств бактериально синтезированных наночастиц селена;

использованы современные методы получения и обработки информации в рамках систем сбора, обработки и визуализации данных: программ ImageJ, Omnic 8.2.0.387, GelAnalyzer2010a и Excel 2010.

Личный вклад соискателя состоит в:

проведении автором лично следующих этапов работы: анализ научной литературы, определение влияния селенит-ионов на рост бактерий рода *Azospirillum*, определение влияния условий бактериального синтеза селеновых наночастиц, оптимизация условий синтеза наночастиц селена и их выделения, электрофоретическое исследование белковой составляющей биоорганического слоя наночастиц, изучение механизмов восстановления селенит-ионов азоспириллами; включенном участии на этапе характеристики свойств полученных наночастиц с помощью физико-химических, иммунохимических и цитотоксического методов; личном участии в апробации результатов исследования, обработке, оформлении и публикации результатов.

На заседании 28.02.2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Мамченковой П.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **19** человек, из них **9** докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология и **9** докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из **21** человек, входящих в состав совета, проголосовали: за **19**, против **0**, недействительных бюллетеней **нет**.

Председатель
диссертационного совета
профессор, д.м.н., академик РАН  (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.б.н.  (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 28.02.2020 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.