

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

комиссии диссертационного совета Д 350.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора по кандидатской диссертации диссертации Мамченковой Полины Владимировны на тему: «Трансформация селенит-ионов бактериями рода *Azospirillum* с образованием наночастиц селена», выполненной в лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 – Микробиология и 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

**Соответствие соискателя ученой степени требованиям, необходимым для допуска к защите.** Мамченкова П.В. соответствует требованиям к соискателям, изложенным в п. 3 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.: имеет высшее образование, подтвержденное дипломом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности «Биология». Диссертация была подготовлена в лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ИБФРМ РАН). Данная работа получила положительное заключение на расширенном заседании лаборатории биохимии ИБФРМ РАН. Сдача кандидатских экзаменов подтверждается предоставленной справкой.

**Соответствие диссертации специальности, по которой совету предоставлено право защиты.** Диссертация Мамченковой П.В. выполнена в рамках научной тематики ИБФРМ РАН под руководством специалиста в области микробиологии и биохимии бактерий рода *Azospirillum*, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории биохимии ИБФРМ РАН, Тугаровой Анны Владимировны и специалиста в области биоаналитической молекулярной спектроскопии – доктора химических наук, профессора, ведущего научного сотрудника лаборатории биохимии ИБФРМ РАН Камнева Александра Анатольевича. Работа выполнена на современном научно-методическом уровне с использованием микробиологических и иммунохимических методов, а также ряда физико-химических методов, таких как ИК-фурье-спектроскопия (ИКФС), спектроскопия комбинационного рассеяния и других физико-химических и биоаналитических подходов. Члены комиссии считают, что диссертация Мамченковой П.В. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», а также паспортам специальностей 03.02.03 – Микробиология по

пунктам 3 – «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов» и 9 – «Участие микроорганизмов в круговороте веществ», и 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в области исследований по пункту 3 – «Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения.».

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором. Выполнение требований к публикации основных научных результатов диссертации.** Основные результаты диссертации опубликованы в 19 печатных работах, из них 4 публикации, включая 2 статьи, в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus. что является вполне достаточным для проведения ее защиты.

Представленные в диссертационной работе экспериментальные данные получены лично автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование и проведение экспериментов, анализ и обсуждение полученные данных, оформление и публикацию результатов. В данной диссертации не обнаружено присвоения авторства чужого научного труда, результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, изложения полученных результатов и их обсуждения, выводов, списка цитируемой литературы, содержащего 253 источника, в том числе – 245 зарубежных. Работа изложена на 146 страницах машинописного текста, содержит 33 рисунка и 5 таблиц.

**Актуальность** Изучение способности бактерий к трансформации соединений селена и, в частности, токсичных оксоанионов селена – селенитов и селенатов – остается актуальной областью исследований на сегодняшний день. Внимание исследователей привлекает возможность использования бактерий, способных к восстановлению указанных соединений селена, в очистке сточных вод производств, а также загрязненных селеном почв и водоемов. Помимо этого, в результате восстановления оксоанионов селена бактериями образуются наночастицы элементарного селена ( $Se^0$ ) (Dowdle & Oremland, 1998). Последние можно использовать в технике и микроэлектронике для создания солнечных батарей, сенсоров и т.д. (Shirsat *et al.*, 2015; Wadhvani *et al.*, 2016). Восстановление селенит-ионов с использованием бактерий относится к зеленой химии. Такой синтез отличается большей безопасностью в связи с ограничением использования токсичных соединений и, соответственно, возможностью использования получаемых селеновых наночастиц (Se-НЧ) без дополнительной очистки в медицине и животноводстве в качестве биодобавок для

предотвращения селенодефицита, а также для терапии раковых заболеваний. Было показано, что биологически синтезированные Se-НЧ отличаются от наночастиц, полученных другими способами, по структуре и свойствам (Oremland *et al.*, 2004). Свойства наночастиц, полученных с помощью разных бактерий, также могут различаться. Основными проблемами при получении Se-НЧ с помощью бактерий являются их гетерогенность по размерам, небольшая скорость синтеза и зачастую внутриклеточное нахождение Se-НЧ, что затрудняет их очистку.

Восстановление оксоанионов селена бактериями может включать разные метаболические процессы с участием различных групп ферментов, белков или пептидов (Nancharaiiah & Lens, 2015). В восстановлении селенитов у бактерий, скорее всего, одновременно участвуют несколько биохимических путей. Бактериальное восстановление селенатов, содержащих Se в степени окисления +6 ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ), встречается гораздо реже, чем селенитов (степень окисления +4;  $\text{SeO}_3^{2-}$ ). В частности, для бактерии *Azospirillum brasilense* показана способность к восстановлению селенитов, но не селенатов (Tugarova *et al.*, 2014). Несмотря на большое количество публикаций на эту тему, до сих пор не выяснено, как именно происходит данный процесс и каковы его особенности у различных микроорганизмов. Таким образом, механизмы восстановления селенит-ионов и формирования в процессе этого наноразмерных частиц элементарного селена требуют дальнейшего изучения.

Изучение механизмов восстановления селенит-ионов микроорганизмами, в частности, азоспириллами – биотехнологически важными и широко изучаемыми бактериями, может дать ключ к лучшему пониманию биогеохимических циклов соединений селена, а также к управлению восстановлением селенит-ионов для использования таких бактерий в качестве клеточных фабрик для получения Se-НЧ.

**Цель работы** – исследование механизмов восстановления селенит-ионов бактериями рода *Azospirillum* для получения наночастиц селена и характеристика последних.

**Научная новизна полученных результатов** Предложена оригинальная методика синтеза Se-НЧ с помощью азоспирилл, позволяющая получать гомогенные по размерам наночастицы с экстраклеточной локализацией за достаточно короткое время (1 сут). Впервые была исследована токсичность селенита для 7 различных видов азоспирилл (*A. lipoferum*, *A. halopraeferens*, *A. thiophilum*, *A. zeaе*, *A. formosense*, *A. palatum*, *A. picis*) и установлено, что все исследованные виды способны восстанавливать селенит и образовывать Se-НЧ. Впервые показано участие протон-зависимого транспорта в процессе выноса зародышей селеновых наночастиц через мембрану при восстановлении селенит-ионов азоспириллами с формированием наночастиц селена. Определена важная роль системы денитрификации в этом процессе. Установлено, что у азоспирилл восстановление с участием редокс-системы глутатиона, считающееся основным механизмом для детоксификации  $\text{SeO}_3^{2-}$ , не играет существенной роли.

На основании анализа поступившей работы комиссия пришла к заключению о возможности защиты кандидатской диссертации Мамченковой Полины Владимировны на тему: «Трансформация селенит-ионов бактериями рода *Azospirillum* с образованием наночастиц селена» в диссертационном совете Д 350.002.01 при ФБУН ГНЦ ПМБ.

Члены комиссии:

доктор биол. наук Игнатов Сергей Георгиевич (председатель) \_\_\_\_\_  
(подпись)

доктор вет. наук, профессор Светоч Эдуард Арсеньевич \_\_\_\_\_  
(подпись)

доктор биол. наук Потапов Василий Дмитриевич \_\_\_\_\_  
(подпись)

доктор тех. наук, с.н.с. Похиленко Виктор Данилович \_\_\_\_\_  
(подпись)

доктор биол. наук Коломбет Любовь Васильевна \_\_\_\_\_  
(подпись)

доктор биол. наук Шепелин Анатолий Прокопьевич \_\_\_\_\_  
(подпись)

Председатель диссертационного совета

Д 350.002.01, академик РАН, д-р мед. наук, проф.

Дятлов И.А.

Ученый секретарь диссертационного

совета Д 350.002.01, канд. биол. наук

Фурсова Н.К.