

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.201.03, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
ПЕРМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА УРАЛЬСКОГО  
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ  
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 14.11.2025 г. № 4

О присуждении **Протасовой Елены Михайловны** ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «**Влияние акриламида на амидазосодержащие бактерии родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus* и их применение для биодетекции этого токсиканта**» по специальности 1.5.11. Микробиология (Биологические науки) принята к защите 04.09.2025 года (протокол заседания № 25/3п) диссертационным советом 24.1.201.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, 614000, г. Пермь, ул. Ленина, д. 13А, приказ Минобрнауки России о создании диссертационного совета № 35/нк от 28 января 2025 г.

Соискатель Протасова Елена Михайловна, 10 марта 1996 г. рождения, в 2020 г. с *отличием* окончила магистратуру Федерального государственного бюджетного учреждения высшего профессионального образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по направлению подготовки «Биология», в 2024 г. окончила аспирантуру ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки».

Диссертация выполнена в «Институте экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиале Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, доцент Максимова Юлия Геннадьевна, заведующая лабораторией молекулярной биотехнологии «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского

федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:** Холявка Марина Геннадьевна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биофизики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», Литти Юрий Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией микробиологии антропогенных мест обитания Института микробиологии имени С.Н. Виноградского РАН Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» в своем положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, доцентом, заведующей кафедрой биотехнологии и микробиологии Батлуцкой Ириной Витальевной, указала, что диссертация Протасовой Е.М. «Влияние акриламида на амидазосодержащие бактерии родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus* и их применение для биодетекции этого токсиканта», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной для прикладной микробиологии задачи, касающейся изучения физиологического ответа бактериальной клетки на воздействие акриламида и разработки биоселектирующего агента на акриламид на основе иммобилизованных бактериальных клеток с амидазной активностью, и соответствует требованиям пп. 9–14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции) «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Протасова Е.М. заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Соискатель имеет 26 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 15 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 работы. Объем научных изданий составляет 65 стр., авторский вклад – 80%. Сведения об опубликованных работах в диссертации соискателя ученой степени достоверны. Получен 1 патент на изобретение РФ. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Максимова Ю.Г., Мочалова (**Протасова**) Е.М., Демаков В.А. Влияние акриламида на энергетическое состояние и выживаемость бактерий разных систематических групп п// Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. 2020. Т. 492. С. 255–259. (Scopus, WoS)

2. Мочалова (**Протасова**) Е.М., Максимова Ю.Г. Иммобилизация клеток нитрилгидролизующих бактерий *Rhodococcus erythropolis* 4-1 и *Alcaligenes faecalis* 2 с использованием термотропных и ионотропных гелей // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2020. Вып. 1. С. 26–32. (БАК)

3. **Protasova** E.M., Maksimova Yu.G. Development of a bio-selecting agent based on immobilized bacterial cells with amidase activity for bio-detection of acrylamide // Applied Biochemistry and Microbiology. 2024. V. 60, № 5. P. 942–949. (Scopus, WoS)

4. **Протасова** Е.М. Биодegradация линейных полиакриламидов амидазосодержащими бактериями // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2025. Вып. 1. С. 43–48. (БАК)

5. Патент РФ 2830305. Максимова Ю.Г., Максимов А.Ю., **Протасова** Е.М. Способ биодетекции акриламида иммобилизованными клетками амидазосодержащих бактерий. Приоритет изобр. от 22.03.2024. Зарег. в Госреестре изобр. РФ 18.11.2024. Бюл. № 32. Патентообладатель: ПФИЦ УрО РАН.

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы:** от д.б.н., в.н.с. лаборатории экологической биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Иркутский институт химии имени А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук» Беловежец Л.А. (г. Иркутск); д.б.н., доц., зав. кафедрой генетики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Каюмова А.Р. (г. Казань); д.х.н., проф., заслуженного деятеля науки РФ, гл.н.с. кафедры химической энзимологии МГУ имени М.В. Ломоносова Угаровой Н.Н. и к.х.н., доц., с.н.с. кафедры химической энзимологии МГУ имени М.В. Ломоносова Ломакиной Г.Ю. (г. Москва); к.б.н., зав. лабораторией антимикробной резистентности Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный университет» Васильченко А.С. (г. Тюмень); к.б.н., с.н.с. Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленного подразделения «Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук» Жила Н.О. (г. Красноярск); д.б.н., доц., в.н.с. Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Оренбургского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук Яценко-Степановой Т.Н. и к.б.н., директора

Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Оренбургского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук Плотникова А.О. (г. Оренбург); к.б.н., зав. лаб. биологического контроля фитопатогенных микроорганизмов Государственного научно-производственного объединения «Химический синтез и биотехнологии» Купцова В.Н. (г. Минск, Республика Беларусь); д.б.н., гл.н.с., зав. лаб. цитологии одноклеточных организмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук» Скарлато С.О. (г. Санкт-Петербург); к.т.н., профессора каф. биологии, экологии и биотехнологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» Аксенова А.С. (г. Архангельск).

Все полученные отзывы на автореферат положительные, в них отмечается актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования, а также высокий общий и методический уровень выполненной работы. В отзыве д.б.н. Каюмова А.Р. имеется вопрос, касающийся кондуктометрической кривой, которая имеет небольшой тренд к логарифмической функции, а также указывается в качестве пожелания, что было бы полезно оценить мутагенность на штаммах TA98 и TA100. В отзыве к.б.н. Васильченко А.С. имеются вопросы, касающиеся молекулярного механизма, лежащего в основе избирательной микробной деградации полиакриламидов в зависимости от заряда полимера, а также возможных проблем потери активности нескольких циклов замораживания-оттаивания. В отзыве д.б.н. Скарлато С.О. имеется замечание, касающееся оформления таблиц 4 и 5 и рисунка 4 (не расшифрована аббревиатура). В отзыве к.т.н. Аксенова А.С. имеется замечание, касающееся отсутствия информации об оптимальных значениях pH в различных вариантах системы «бактериальная амидаза-акриламид». Во всех отзывах сделано заключение, что диссертация Протасовой Е.М. соответствует требованиям пп. 9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология (Биологические науки).

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** высоким уровнем профессиональной компетентности д.б.н. Холявка М.Г. и к.б.н. Литти Ю.В. и научными достижениями Федерального государственного автономного

образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». М.Г. Холявка – автор более 610 научных публикаций, является признанным специалистом в области иммобилизации биокатализаторов, Ю.В. Литти является высоко квалифицированным специалистом в области микробиологии, занимается изучением вопросов биodeградации и биотрансформации органических соединений, имеет свыше 190 публикаций в научных журналах. Официальные оппоненты не имеют совместных публикаций с соискателем.

Коллектив кафедры биотехнологии и микробиологии института фармации, химии и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» имеет публикации в ведущих отечественных и зарубежных научных журналах в области общей и прикладной микробиологии, экологии и биохимии микроорганизмов, отражающие исследования потенциала бактерий-деструкторов поллютантов для биотехнологического применения. Соискатель и научный руководитель соискателя не работают в данной организации и не являются участниками научно-исследовательских работ, ведущихся в этой организации.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

охарактеризованы физиологические и ростовые параметры клеток бактерий родов *Alcaligenes*, *Rhodococcus* и *Escherichia* при воздействии акриламида: дыхательная активность, жизнеспособность, энергетический статус клеток, люминесценция генно-инженерного штамма *E. coli* K12 TG1 (pXen7);

выявлена нецелесообразность использования генно-модифицированного штамма *E. coli* K12 TG1 (pXen7) в качестве тест-системы для мониторинга акриламида из-за отсутствия специфичности к этому соединению;

установлено, что акриламид не обладает мутагенным действием в отношении изученных штаммов прокариот;

изучена иммобилизация клеток бактерий родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus* различными способами (включением в структуру гелей, адгезией на поверхности нерастворимых носителей, выращиванием биопленок на носителях);

экспериментально доказано, что оптимальным способом хранения иммобилизованных биокатализаторов на основе клеток *A. faecalis* 2, включенных в структуру геля агарозы и альгината бария, является их однократное замораживание;

показано, что *R. erythropolis* ИЛ БИО и *A. faecalis* 2 способны использовать линейные катионные, анионные и неионогенный полиакриламиды в качестве ростового субстрата;

разработана рабочая модель кондуктометрического биосенсора на акриламид на основе иммобилизованных в структуре агарозы и альгината бария амидазосодержащих клеток *A. faecalis* 2, *R. erythropolis* 11-2 и *R. erythropolis* 4-1.

**Теоретическая значимость исследования обоснована** тем, что:

полученные результаты расширяют представление о влиянии акриламида на физиологические особенности клеток бактерий родов *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Escherichia* и *Salmonella*;

показана устойчивость большинства изученных штаммов при воздействии возрастающих концентраций акриламида;

полученные результаты дополняют сведения, известные из научной литературы, посвященной изучению мутагенного эффекта данного токсиканта;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы традиционные микробиологические методы исследования, а также физико-химические, биохимические и аналитические методы;

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

выявлен наиболее перспективный для разработки биоселектирующего агента кондуктометрического биосенсора на акриламид способ иммобилизации и носитель микробных клеток;

установлен оптимальный способ длительного хранения иммобилизованных биокатализаторов на основе клеток *A. faecalis* 2, включенных в структуру геля агарозы и альгината бария, основанный на их замораживании при  $-20$  и  $-80^{\circ}\text{C}$ , и выявлена возможность многоциклового трансформации таким биокатализатором акриламида до акриловой кислоты без потери амидазной активности;

разработана рабочая модель кондуктометрического микробного биосенсора на акриламид для биодетекции этого токсиканта в воде и водной вытяжке из пищевых продуктов;

получен патент на изобретение РФ (RU 2830305) «Способ биодетекции акриламида иммобилизованными клетками амидазосодержащих бактерий»;

определены перспективы практического использования амидазосодержащих штаммов *R. erythropolis* ИЛ БИО и *A. faecalis* 2 для утилизации избытков отработанного полиакриламида;

результаты диссертационного исследования используются в лекционных курсах для студентов биологического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

для экспериментальных работ результаты исследований получены при использовании современного высокоточного аналитического оборудования (хроматографа, спектрофотометра, планшетного ридера, вискозиметра, кондуктометра), достигнута воспроизводимость результатов в различных условиях;

использованы современные, адекватные поставленным задачам, бактериологические, биохимические и аналитические методы исследования;

все данные являются результатами не менее чем трех независимых опытов, результаты обработаны с использованием лицензионных программ и современных методов статистического анализа;

идея базируется на обобщении передового опыта, а также полученных ранее экспериментальных данных исследователей из России и других стран;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике другими исследователями, касающихся влияния акриламида на физиологические особенности прокариот, их применения в процессах биодетекции данного токсиканта и биodeградации полимеров этого вещества, для интерпретации полученных результатов и выявления особенностей изучаемых процессов;

теория построена на известных, проверяемых сведениях, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации.

**Личный вклад соискателя состоит в:** личном участии на всех этапах процесса, непосредственном участии в получении экспериментальных данных, их первичной обработке и интерпретации, подготовке основных публикаций по выполненной работе, участии в апробации полученных результатов на конференциях различного уровня. Соискатель является первым автором в большинстве опубликованных работ; одна статья в журнале, рекомендованном ВАК, опубликована в моноавторстве.

Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора; все исследования проведены на базе «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

В ходе защиты диссертации д.б.н. Раевым М.Б. высказано замечание, касающееся необходимости обратить внимание на реальные условия работы биосенсора, которые

будут отличаться от лабораторных условий. Соискатель дал исчерпывающие ответы на поставленные вопросы, согласился с замечаниями.

На заседании 14 ноября 2025 г. диссертационный совет принял решение за выполнение научной задачи, связанной с изучением физиологического ответа бактериальной клетки на воздействие акриламида и разработкой биоселектирующего агента на акриламид на основе иммобилизованных бактериальных клеток с амидазной активностью, присудить Протасовой Е.М. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.11. Микробиология (Биологические науки), участвовавших в заседании, из 16 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 14, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель диссертационного совета 24.1.201.03,  
академик РАН, д.б.н., профессор

Ившина Ирина Борисовна

Ученый секретарь диссертационного совета  
24.1.201.03, д.б.н., доцент

Максимова Юлия Геннадьевна

14.11.2025 г.