

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Пермский
Федеральный исследовательский
центр Уральского отделения
Российской академии наук,
член-корр. РАН, д.ф.-м.н.

О.А. Плехов



июль 20 25 г.

(печать организации)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского
федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской
академии наук (ПФИЦ УрО РАН)**

Диссертация Протасовой Елены Михайловны «Влияние акриламида на амидазосодержащие бактерии родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus* и их применение для биодетекции этого токсиканта» выполнена на базе лаборатории 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 (далее «ИЭГМ УрО РАН»).

В период подготовки диссертации соискатель Протасова Елена Михайловна обучалась в очной аспирантуре «ИЭГМ УрО РАН» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки, а также работала в лаборатории молекулярной биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» в должности инженера с июня 2021 по июнь 2025 гг., в лаборатории агробиофотоники «Пермского научно-исследовательского института сельского хозяйства» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук с мая 2022 по июнь 2025 гг. – младшего научного сотрудника, а с июня 2025 г. в лаборатории молекулярной биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» – младшего научного сотрудника.

В 2018 г. с отличием окончила бакалавриат Федерального государственного бюджетного учреждения высшего профессионального образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по направлению «Биология» (диплом № 105931 0065388).

В 2020 г. с отличием окончила магистратуру Федерального государственного бюджетного учреждения высшего профессионального образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по направлению «Биология» (диплом № 105931 0206869).

В 2024 г. окончила аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук по направлению «Биологические науки» (диплом № 105924 0329086).

Научный руководитель:

д.б.н. (03.02.03 Микробиология), доцент Максимова Юлия Геннадьевна, заведующая лабораторией молекулярной биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» - филиала ПФИЦ УрО РАН.

По итогам обсуждения принято следующее **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**:

Актуальность проблемы. Актуальность изучаемой проблемы обусловлена высокой токсичностью акриламида, который широко используется в разных отраслях промышленности и образуется при высокотемпературной обработке продуктов питания, богатых углеводами. Предприятия по синтезу акриламида и его полимеров являются основными источниками загрязнения среды данным веществом. Контроль за содержанием этого соединения в водных объектах и пищевых продуктах является крайне важным и требует разработки методов и устройств для быстрого и селективного определения этого токсичного вещества, а широкое использование полиакриламидов ставит задачу утилизации отработанных полимеров. Исследование жизнеспособности и ростовых характеристик бактерий при воздействии акриламида, мутагенной активности акриламида, амидазной и дыхательной активности, энергетического состояния клеток при экспозиции с этим токсикантом позволяет получить новые знания, касающиеся изменений физиологического состояния прокариотов под воздействием ксенобиотического вещества, выбрать бактериальные штаммы, имеющие перспективу использования в

качестве биологического элемента биосенсора на акриламид и разработать научные основы конструирования такого устройства. Поэтому исследование физиологических и биохимических особенностей амидазосодержащих бактерий для их применения в процессах биодетекции акриламида и биodeградации полимеров этого вещества является важной задачей современной микробиологии.

Личное участие автора в получении научных результатов. Формулирование темы, постановка цели и задач диссертационного исследования осуществлялись в сотрудничестве с научным руководителем – доктором биологических наук, доцентом Ю.Г. Максимовой. Автором проведён тщательный анализ российской и зарубежной научной литературы по рассматриваемой проблематике, а также выполнена основная экспериментальная часть, включающая изучение влияния акриламида на физиологические показатели амидазосодержащих бактерий родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus* (энергетический статус клеток, дыхательную активность, выживаемость, ферментативную активность), оценку мутагенной активности этого соединения по отношению к бактериям, определение способности роста на среде с полиакриламидами, проведение иммобилизации клеток бактерий различными способами, определение операционной стабильности и возможности длительного хранения иммобилизованного биокатализатора в различных условиях и разработку способа биодетекции акриламида при участии иммобилизованных клеток бактерий. Метод ВЭЖХ выполнен ведущим инженером лаборатории молекулярной биотехнологии ИЭГМ УрО РАН Г.В. Овечкиной. Основная экспериментальная работа выполнена автором лично.

Требования п. 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции) «О порядке присуждения ученых степеней» выполнены. В диссертации соискатель ссылается на все источники правомерного заимствования материалов или отдельных результатов и их авторов.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Полученные Протасовой Е.М. результаты представительны и достоверны, что подтверждается их воспроизводимостью, и не противоречат данным литературы и принятым представлениям о физиологии микроорганизмов. Использованные в исследовании методики корректны. Достоверность различий показана с помощью метода математической статистики (t-критерий Стьюдента). Результаты получены

на современном оборудовании, калибровки обоснованы, использованы современные методики сбора и обработки информации. Выводы диссертационной работы обоснованы и согласуются с полученными результатами.

Научная новизна работы. Впервые всесторонне 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). Показано, что влияние акриламида только в высоких концентрациях вызывает снижение жизнеспособности и метаболической активности у большинства штаммов. 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. Показано, что акриламид не обладает мутагенным действием в отношении прокариотов. Выявлено, что иммобилизация бактериальных клеток в структуру гелей альгината бария и агарозы, либо самоиммобилизация в виде биопленок при росте на терморасширенном графите, позволяет получить стабильные и механически прочные биокатализаторы. Показано, что оптимальным способом хранения иммобилизованных биокатализаторов на основе клеток *A. faecalis* 2, включенных в структуру геля агарозы и альгината бария, является их замораживание при -20 и при -80°C . Показана перспективность использования клеток амидазосодержащего штамма *A. faecalis* 2, иммобилизованных в структуре геля агарозы, в качестве биоселектирующего элемента кондуктометрического биосенсора на акриламид. Показана способность *A. faecalis* 2 и *R. erythropolis* ИЛ БИО использовать анионные, катионные и неионогенные полиакриламиды в качестве источника углеродного, азотного питания или единственного ростового субстрата.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследования расширяют представление о влиянии акриламида на физиологические особенности клеток бактерий родов *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Escherichia* и *Salmonella*. Показана устойчивость большинства штаммов при воздействии возрастающих концентраций акриламида. Выявлено, что акриламид не обладает выраженным бактерицидным действием и генотоксичностью по

отношению к индикаторным штаммам в стандартном тесте Эймса. Полученные результаты дополняют сведения, известные из научной литературы, посвященной изучению мутагенного эффекта данного токсиканта. Разработан прототип кондуктометрического микробного биосенсора на акриламид для биодетекции этого токсиканта в воде и водной вытяжке из пищевых продуктов. Показан оптимальный и долговременный способ хранения иммобилизованных биокатализаторов, основанный на их замораживании. Показано, что амидазосодержащие штаммы рода *Rhodococcus* и *Alcaligenes* могут деградировать катионные, анионные и неионогенный полиакриламиды, используя их в качестве субстрата для роста. В перспективе данные штаммы могут быть применены для утилизации избытков отработанного полимера. Результаты получены впервые и сопоставимы с Российским и мировым уровнем исследований.

Ценность научных работ соискателя. Ценность научных работ Протасовой Е.М. заключается в получении новых знаний о влиянии акриламида на физиологические особенности клеток бактерий, мутагенной активности этого токсиканта по отношению к бактериям, в разработке способа биодетекции акриламида при участии иммобилизованных клеток бактерий с амидазной активностью. Научные работы Протасовой Елены Михайловны опубликованы в центральных и региональных изданиях, а также в журналах по специальности, входящих в международные базы данных. Получен патент на изобретение РФ (RU 2830305) «Способ биодетекции акриламида иммобилизованными клетками амидазосодержащих бактерий». Опубликованные результаты будут востребованы в научной деятельности ученых, занимающихся проблемами изучения токсичности акриламида по отношению к бактериям, утилизации избытков отработанного акрилового полимера, а также процессами иммобилизации клеток бактерий и биодетекцией.

Научная специальность, которой соответствует диссертация. По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям, по объему и новизне полученных автором данных диссертационная работа полностью соответствует паспорту специальности научных работников 1.5.11. Микробиология (биологические науки) и области исследования паспорта специальности: п. 5

(Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов).

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 14 научных работах, из них работ, опубликованных согласно перечню российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук (перечень ВАК РФ) – 2, а также работ в научных изданиях, индексируемых базами Scopus и/или Web of Science – 2. Изложенные материалы полностью отражают результаты диссертационной работы. Получен патент на изобретение РФ.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Максимова, Ю.Г. Влияние акриламида на энергетическое состояние и выживаемость бактерий разных систематических групп / Ю.Г. Максимова, Е.М. Мочалова (Е.М. Протасова), В.А. Демаков // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2020. – Т. 492. – С. 255–259.
2. Мочалова, Е.М. (Протасова, Е.М.) Иммобилизация клеток нитрилгидролизующих бактерий *Rhodococcus erythropolis* 4-1 и *Alcaligenes faecalis* 2 с использованием термотропных и ионотропных гелей / Е.М. Мочалова (Е.М. Протасова), Ю.Г. Максимова // Вестник Пермского университета. Серия Биология. – 2020. – № 1. – С. 26–32.
3. Protasova, E.M. Development of a bio-selecting agent based on immobilized bacterial cells with amidase activity for bio-detection of acrylamide / E.M. Protasova, Yu.G. Maksimova // Appl. Biochem. Microbiol. – 2024. – V. 60, № 5. – P. 942–949.
4. Протасова, Е.М. Биодegradация линейных полиакриламидов амидазосодержащими бактериями / Е.М. Протасова // Вестник Пермского университета. Серия Биология. – 2025. – № 1. – С. 43–48.

Патентные документы

1. Пат. 2830305 Российская Федерация, МПК7 G01N 27/26 (2006.01), C12N 11/04 (2006.01). Способ биодетекции акриламида иммобилизованными клетками амидазосодержащих бактерий / Максимова Ю. Г., Максимов А. Ю., Протасова Е. М. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН). – № 2024107566; заявл. 22.03.2024 ; опубл. 18.11.2024, Бюл. № 32. – 12 с. : ил.

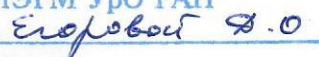
Диссертация «Влияние акриламида на амидазосодержащие бактерии родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus* и их применение для биодетекции этого токсиканта» Протасовой Елены Михайловны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение принято на заседании Проблемной комиссии «ИЭГМ УрО РАН» по специальности «Микробиология». Присутствовало на заседании 13 чел. из 15 списочного состава. Результаты голосования: «за» – 13 чел., «против» – 0 чел., «воздержались – 0 чел. Протокол №2 от 10.04.2025

Секретарь заседания Проблемной комиссии
по микробиологии, зам. директора «ИЭГМ УрО РАН»
по научным вопросам,
д.б.н., доцент

 Д.О. Егорова
(печать)



"ИЭГМ УрО РАН"	
Подпись	
заверяю	
главный специалист по кадрам М.В.Корепанова	