

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 999.219.02,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ПЕРМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ “ПЕРМСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА” МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 26 ноября 2020 г. № 67

О присуждении **Власенко Людмиле Викторовне**, гражданке России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация **“Оценка антибактериальной активности углеродных наноматериалов с использованием бактериальных люминесцирующих биосенсоров”** по специальности 03.02.03 Микробиология принята к защите 25.09.2020 г. (протокол заседания № 20/4) диссертационным советом Д 999.219.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, 614099, г. Пермь, ул. Ленина, 13а, Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования “Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера” Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26, приказ о создании диссертационного совета № 171/нк от 02 октября 2018 г.

Соискатель Власенко Людмила Викторовна, 1990 года рождения, в 2012 году с отличием окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Оренбургский государственный университет” по специальности “Микробиология”, в 2015 году окончила очную аспирантуру по направлению подготовки “Биологические науки” Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Оренбургский

государственный университет”); работает в должности лаборанта-исследователя лаборатории селекционно-генетических исследований в животноводстве Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий” Российской академии наук.

Диссертация выполнена на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий” Российской академии наук.

**Научный руководитель** – доктор медицинских наук, профессор Дерябин Дмитрий Геннадьевич, ведущий научный сотрудник лаборатории селекционно-генетических исследований в животноводстве Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий” Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:** Кацев Андрей Моисеевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской и фармацевтической химии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования “Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского”; Масленникова Ирина Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции “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, дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования “Сибирский федеральный университет”, г. Красноярск, в своем положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, профессором, заведующей кафедрой биофизики Кратасюк Валентиной Александровной, указала, что диссертация Власенко Л.В. “Оценка антибактериальной активности углеродных наноматериалов с использованием бактериальных люминесцирующих биосенсоров”, представленная на соискание ученой степени кандидата

биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи об оценке биологической активности УНМ с использованием бактериальных *lux*-биосенсоров, имеющей важное значение для развития микробиологической отрасли научного знания, и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Соискатель имеет 15 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 9 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 5 работ. Объем научных изданий составляет 48 стр., авторский вклад – 80 %. Сведения об опубликованных работах в диссертации соискателя ученой степени достоверны. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Дерябин, Д.Г. Применение теста бактериальной биолюминесценции для оценки биотоксичности углеродных наноматериалов / Д.Г. Дерябин, Е.С. Алешина, Л.В. Ефремова (Власенко) // Микробиология. – 2012. – Т. 81. – № 4. – С. 532-538 (Scopus, Web of Science).

2. Дерябин, Д.Г. Токсичность углеродных наноматериалов в отношении *Escherichia coli* зависит от степени дисперсности их водных суспензий / Д.Г. Дерябин, Е.С. Алешина, А.С. Васильченко, Л.В. Ефремова (Власенко), О.С. Клокова // Российские нанотехнологии. – 2013. – Т. 8. – № 7-8. – С. 120-127 (Scopus, Web of Science).

3. Efremova (Vlasenko), L.V. Toxicity of graphene shells, graphene oxide and graphene oxide paper evaluated with *Escherichia coli* biotests / L.V. Efremova (Vlasenko), A.S. Vasilchenko, E.G. Rakov, D.G. Deryabin // BioMed Research International. – 2015. – V. 2015. – Article ID 869361 (Scopus, Web of Science).

4. Deryabin, D.G. A zeta potential value determines the aggregate's size of penta-substituted [60]fullerene derivatives in aqueous suspension whereas positive charge is required for toxicity against bacterial cells / D.G. Deryabin, L.V. Efremova (Vlasenko), A.S. Vasilchenko, E.V. Saidakova, E.A. Sizova, P.A.

Troshin, A.V. Zhilenkov, E.A. Khakina // Journal of Nanobiotechnology. – 2015. – DOI: 10.1186/s12951-015-0112-6 (Scopus, Web of Science).

5. Дерябин, Д.Г. Сравнение чувствительности люминесцирующих штаммов *Photobacterium phosphoreum*, *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis* при оценке биотоксичности углеродных наноматериалов и наночастиц металлов / Д.Г. Дерябин, Л.В. Ефремова (Власенко), И.Ф. Каримов, И.В. Манухов, Е.Ю. Гнучих, С.А. Мирошников // Микробиология. – 2016. – Т. 85. – № 2. – С. 177-186 (Scopus, Web of Science).

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы:** от д.б.н., доцента, доцента кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии Высшей школы биологии центра биологии и педагогического образования ФГАОУ ВО “Казанский (Приволжский) федеральный университет” Каюмова А.Р. (Казань); д.м.н., доцента, ведущего научного сотрудника лаборатории микробной экологии и дисбиозов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук Фадеева С.Б. (Оренбург); д.б.н., профессора, заведующей лабораторией “Биологического воздействия наноструктур” Института энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе ФГБУН Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук Глуценко Н.Н. (Москва); к.б.н., инженера ФГАОУ ВО “Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)” Коноплевой М.Н. (Долгопрудный); к.б.н., доцента департамента биологии и фундаментальной медицины ФГАОУ ВО “Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина” Улитко М.В. (Екатеринбург).

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 замечание, касающееся нежелательного использования терминов

“исследование”, “изучение” при формулировке цели работы. Во всех отзывах сделано заключение, что диссертация соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а Л.В. Власенко заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** высоким уровнем профессиональной компетентности д.б.н., профессора Кацева А.М. и к.б.н. Масленниковой И.Л. и научными достижениями ФГАОУ ВО “Сибирский федеральный университет” в области микробиологии. Кацев А.М. – автор более 80 научных публикаций, является признанным специалистом в области биолюминесцентного анализа. Масленникова И.Л. является специалистом в области микробиологии, имеет свыше 40 публикации в рецензируемых журналах, в том числе работы, касающиеся биолюминесцентного анализа. Официальные оппоненты не имеют совместных публикаций с соискателем.

Коллектив кафедры биофизики ФГАОУ ВО “Сибирский федеральный университет” имеет публикации в ведущих отечественных и зарубежных научных журналах в области физиологии, биохимии и биотехнологии микроорганизмов, отражающие исследования по разработке биолюминесцентных биосенсоров, в том числе для экологического мониторинга. 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:**

разработана новая научная идея, расширяющая представление об условиях формирования и механизмах развития биологической активности углеродных наноматериалов (УНМ) в отношении бактериальных клеток;

проведен сравнительный анализ антибактериальной активности УНМ в отношении *lux*-биосенсоров с конститутивным типом свечения, результатом которого стало выявление различной биоактивности УНМ, что согласовывалось с результатами ростовых микробиологических тестов;

определены физико-химические характеристики УНМ, которые способствуют проявлению у них антибактериальной активности: наиболее важным параметром является степень смачиваемости поверхности УНМ, а для функционализированных производных С60-фуллерена дополнительной значимой характеристикой служит знак заряда поверхности наночастиц;

предложен механизм антибактериальной активности УНМ, заключающийся в нарушении энергетического метаболизма бактерий, который первоначально проявляется в снижении интенсивности бактериальной биолюминесценции, а в конечном итоге приводит к постепенной утрате жизнеспособности бактериальных клеток.

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

полученные данные расширяют представление о биологической активности УНМ в отношении бактериальных клеток;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы традиционные микробиологические методы исследования (метод биолюминесцентного анализа, ростовые микробиологические тесты), современные методы визуализации (атомно-силовая и флуоресцентная микроскопия), а также адекватные методы определения физико-химических характеристик УНМ (измерение равновесных краевых углов смачивания их поверхностей; седиментационного анализа формируемых водных суспензий; определения размера и поверхностного дзета-потенциала наночастиц в суспензиях с использованием метода динамического светорассеяния и геле-электрофореза);

изложены доказательства использования *lux*-биосенсоров с конститутивным типом свечения в системе оценки антибактериальной активности УНМ;

идентифицированы физико-химические характеристики соединений наноуглерода, значимые для наличия у них биоактивности;

изучены возможные механизмы антибактериальной активности УНМ, в том числе с использованием *lux*-биосенсоров с индуцибельным типом свечения.

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

обоснованы возможности использования *lux*-биосенсоров в системе оценки биотоксичности УНМ, что может учитываться при анализе возможных рисков их поступления в природные экосистемы;

определены физико-химические характеристики УНМ, значимые для реализации их антибактериального эффекта, что может быть использовано для целенаправленного синтеза наноразмерных соединений с выраженной антибактериальной активностью.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

результаты исследований получены на сертифицированном оборудовании, достигнута воспроизводимость результатов в различных условиях;

использованы современные, адекватные поставленным задачам, микробиологические методы исследования, а также методы определения физико-химических характеристик УНМ;

эксперименты выполнены в трехкратной повторности, 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;

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

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике, для интерпретации полученных результатов и выявления особенностей изучаемых процессов.

**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;

научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора; исследования методом атомно-силовой

