

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.004.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 19 января 2023 г. № 1.

О присуждении Кузнецову Денису Бахтиеровичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Применение СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов» по специальности 1.5.6. – Биотехнология принята к защите 15.11.2022 г. протокол № 6 диссертационным советом 64.1.004.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ № 791/нк от 09.12.2020 г. част. изм., приказ № 1040/нк от 13.10.2021 г. част. изм.

Соискатель Кузнецов Денис Бахтиерович, 1986 года рождения. В 2010 г. окончил Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Пермскую государственную фармацевтическую академию по специальности «Фармация», с присвоением квалификации «Провизор», в 2011 г. окончил Институт повышения квалификации Регионального межотраслевого центра переподготовки кадров с присвоением дополнительной квалификации «экономист-аналитик хозяйственно-производственной деятельности» к специальности «Провизор».

Диссертация «Применение СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов» выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на основе результатов исследований, проведенных на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации».

С 2010 по 2013 г. обучался в аспирантуре по специальности: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Для завершения диссертационной работы был прикреплен соискателем к Федеральному бюджетному учреждению науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Приказ № 238-2021 от 14.11.2021).

Справка об обучении № 004/11/22 выдана 08.02.2022 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Кузнецов Денис Бахтиерович работал инженером Производственно-технологического отдела в Филиале Акционерного общества «Научно-производственного объединения по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед». С 2018 г. и по настоящее время работает Генеральным директором в Обществе с ограниченной ответственностью «Люмлайн».

Научный руководитель: Миронов Андрей Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, микробиологический отдел, руководитель.

Официальные оппоненты: Красильников Игорь Викторович – доктор биологических наук (03.00.23 - Биотехнология), Публичное Акционерное Общество «Институт стволовых клеток человека», Директор по инновациям в биотехнологии; **Меденцев Александр Григорьевич** (03.00.07 – микробиология) – доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, лаборатория адаптации микроорганизмов, заведующий – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в своем положительном заключении, подписанном кандидатом биологических наук, Колодязной Верой Анатольевной, кафедра биотехнологии, заведующая, указала, что диссертация является законченным научным исследованием, содержащим важные вопросы и решения, касающиеся разработки методов оптимизации «upstream process» и восстановления индикаторных свойств цельноклеточных биосенсоров.

Соискатель имеет 18 печатных работ по теме диссертационной работы, из них 10 статей в рецензируемых изданиях, 8 публикаций в сборниках научных трудов и материалах конференций, общий объем работ составляет 105 страниц с авторским вкладом – 90 страниц. Наиболее значимые работы: 1) Kuznetsov, D.B. Epitaxy of the bound water phase on hydrophilic surfaces of biopolymers as key mechanism of microwave radiation effects on living objects / D.B. Kuznetsov, E.V. Orlova, V.A. Neschislyayev, I.L. Volkhin, I.V. Izmestiev, I.V. Lunegov, A.V.

Balandina, D.G. Dianova // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2017. – V. 154. – P. 40-47; 2) Kuznetsov, D. Microwave Radiation Effects on the Process of *Escherichia coli* Cultivation / D.B. Kuznetsov, I.L. Volkhin, E.V. Orlova, V.A. Neschislyayev, A.V. Balandina, A.A. Shirokich // Microbiology and Biotechnology Letters. – 2019. – V. 47, №. 3. – P. 372-380; 3) Кузнецов, Д.Б. Основы разработки микроволновой интенсификации *upstream process* на примере *Escherichia coli* / Д.Б. Кузнецов, А.Ю. Миронов, В.А. Несчисляев, И.Л. Вольхин, А.М. Королюк, Е.В. Орлова, А.Д. Шилина // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т.10, № 4. – С. 39-47; 4) Kuznetsov, D. Restoration of the Indicator Properties of Whole-cell Luminescent Biosensors / D.B. Kuznetsov, A.Yu. Mironov, V.A. Neschislyayev, I.L. Volkhin, E.V. Orlova, A.D. Shilina // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2022. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03977-7>.

На диссертацию и автореферат поступило 4 положительных отзыва без замечаний от: 1) д.м.н., профессора Евстропова А.Н., заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; 2) д.м.н., профессора Волковой Л.В., профессора кафедры химии и биотехнологии ФГАОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет»; 3) д.м.н., профессора Куярова А.В., заведующего курсами микробиологии, вирусологии и эпидемиологии, профессора кафедры многопрофильной клинической подготовки Бюджетного учреждения Ханты-Мансийского автономного округа - Югры «Сургутский государственный университет»; 4) д.м.н., профессора Маслова Ю.Н., профессора кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России. В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования представлены новые данные, расширяющие знания о влиянии микроволнового излучения на бактериальные культуры и содержит теоретические основы промышленной технологии и концепции устройств, позволяющие перенести лабораторные исследования в пилотное и серийное производство. Разработана технология оптимизации *upstream process* и метод восстановления индикаторных свойств цельноклеточного биосенсора.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в разработке технологий для производства биотехнологической продукции.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **разработана** новая технология интенсификации роста *Escherichia coli* и проведена характеристика эффектов СВЧ-воздействия. **Предложены** оригинальные научные гипотезы, в соответствии с которыми процессы изменения подвижности протонов на интерфейсах клеток, индуцированные СВЧ-излучением, приводят к сложным каскадным реакциям, выражающимся в изменении биологических параметров культуры бактерий. **Доказана** перспективность использования новых концепций, основанных на химии поверхности для интерпретации первичных звеньев биологических эффектов воздействия микроволнового излучения, а также показано практическое значение разработанных теоретических моделей для промышленности. **Введен** метод восстановления/усиления

индикаторных свойств рекомбинантного штамма *E. coli* в практику фармацевтического предприятия.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что **доказана** научная концепция об основных звеньях механизма влияния микроволнового облучения на биологические эффекты при СВЧ-облучении на модели *E. coli* с использованием теоретического аппарата физики и химии поверхности, что позволило интерпретировать результаты СВЧ-обработки на молекулярном уровне. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных методов: микробиологических, биотехнологических, физических, физико-химических и статистических. **Изложены** данные о влиянии переменных технологического процесса и обнаружены новые закономерности, на основании чего были разработаны оригинальные методы и доказана их перспективность использования в практике тестирования антагонистической активности и культивирования штаммов *E. coli*. **Раскрыты** новые идеи, которые вносят вклад в расширение представлений о влиянии различных факторов на получение требуемого биотехнологического результата при микроволновой обработке, что в свою очередь, позволило раскрыть связь ряда переменных и обнаружить зависимость прироста биомассы от количества протонов с низкой подвижностью и от суммарной площади интерфейсов клеток при СВЧ-облучении в виде S-образной кривой. **Изучена** люминесценция цельноклеточного биосенсора, которая характеризует функциональную связь с метаболической активностью клеток, продукцией рекомбинантного белка и экзометаболитов в условиях СВЧ-интенсификации биопроцесса. **Проведена модернизация** технологии культивирования штаммов *E. coli*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что **разработан и внедрен** метод восстановления/усиления индикаторных свойств рекомбинантного штамма *E. coli* в работу АО «НПО Микроген» филиал в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед (акт внедрения от 07.04.2022), материалы диссертации внедрены в образовательный процесс в рамках курса биотехнология в ФГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 01.07.2022). **Определены** особенности влияния метода микроволнового облучения на рост бактериальной культуры, продукцию рекомбинантного белка и выработку экзометаболитов, что может быть использовано при разработке технологии изготовления широкого спектра биотехнологической продукции. **Созданы** теоретические концепции и математические модели для прогнозирования биотехнологического результата при варьировании переменных. **Представлены** практические рекомендации по применению полученных в ходе исследования результатов: разработанном методе повышения выхода биомассы при культивировании штаммов *E. coli*, использовании антенных погружных решеток при конструировании, которые обеспечат соблюдение условий толщины скин-слоя в условиях глубинного культивирования для пилотного и промышленного производства, использовании разработанной технологической схемы и параметров облучения: частота 36,84÷37,04 ГГц в режиме

непрерывной генерации, поток мощности излучения $0,4 \div 10$ мВт/см², продолжительность 25 ± 5 мин, концентрация, при которой необходимо проводить облучение 1200 ± 240 млн кл./мл, температура 37 ± 1 °С.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для **экспериментальных работ** объем фактического материала является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением современных методов и сертифицированного оборудования. Теория исследования построена на известных данных по теме диссертации. В ходе подготовки диссертационной работы получен значительный объем экспериментальных данных.

Идея базируется на известных теоретических и практических материалах и согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными культивированию микроорганизмов, химии поверхности, оптимизации процессов и взаимодействию электромагнитных полей с материей. **Использованы** концепции физической теории функционирования живой клетки. **Установлена** возможность применения разработанной технологии для штаммов *E. coli*. **Использованы** классические и современные методы исследования: биотехнологические, физические, физико-химические и статистические.

Личный вклад соискателя состоит в разработке дизайна научного исследования, изучении доступных на рынке аппаратно-программных комплексов на базе биорактора, сборе и аналитическом обзоре данных литературы, проведении исследований с биосенсором, ЯМР-релаксометрии, рефрактометрии, молекулярной адсорбционной спектроскопии, разработке плана полного факторного эксперимента, математического моделирования и проведении статистической обработки полученных в ходе исследования результатов, разработке методов и технологических решений для оптимизации процессов культивирования *E. coli*. Автором принято непосредственное участие в выполнении всех этапов исследования, написании научных статей и докладах о полученных в ходе работы результатах на научных конференциях. Автор самостоятельно сформулировал выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Микробиологические исследования проводил совместно с профессором кафедры промышленной технологии с курсом биотехнологии ФГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, д.м.н. В.А. Несчисляевым. Совместно с доцентом кафедры радиоэлектроники и защиты информации физического факультета ФГАОУ ВО ПГНИУ, к.ф.-м.н. И.В. Вольхиным выполнил работу по поиску оптимальных условий обработки СВЧ-излучением бактериальных культур, совместно с заведующим кафедрой радиоэлектроники и защиты информации физического факультета ФГАОУ ВО ПГНИУ, к.ф.-м.н. И.В. Лунеговым проводил сканирующую атомно-силовую микроскопию. Автор лично провел статистическую обработку, интерпретировал результаты, определил выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

На заседании 19 января 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Кузнецову Денису Бахтиеровичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология и 11 докторов наук по специальности 1.5.11 – Микробиология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 16, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор



Алёшкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор
20.01.2023 г

Борисова Ольга Юрьевна