

**«Утверждаю»**  
Ректор  
федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный  
химико-фармацевтический университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
доктор фармацевтических наук,  
профессор  
Наркевич Игорь Анатольевич

2022 г.



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

о научно-практической значимости диссертационной работы  
Кузнецова Дениса Бахтиеровича на тему: «Применение СВЧ-излучения при  
получении пробиотических и диагностических препаратов», представленной  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной  
специальности: 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки)

#### **Актуальность темы выполненной работы**

Оптимизация процессов, связанных с получением биотехнологической продукции, является одной из наиболее важных проблем биотехнологии. С развитием и распространением источников микроволнового излучения, а также с высокой частотой использования различных штаммов *Escherichia coli* в качестве продуцентов различных биологически важных веществ, стало актуальным разработка методов интенсификации роста бактериальной культуры.

В течение последних лет поиск новых способов повышения эффективности культивирования, направленный на повышение выхода целевого продукта, был сосредоточен главным образом на получение

биологических эффектов – укорочение лаг-фазы, удлинение лог-фазы и повышение удельной скорости роста культуры.

В настоящее время существует немало производств, где используется *Escherichia coli*, и которые нуждаются в повышении эффективности и снижении издержек на единицу продукции.

Высокая эффективность и безопасность являются необходимыми критериями внедрения новых технологических процессов. Кроме того, согласно требованиям GMP «Guidance for Industry PAT - A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance» производственные процессы должны быть основаны на механистическом понимании влияния факторов на характеристики продукта. Поэтому разработка способов получения биотехнологических продуктов с использованием микроволнового излучения в качестве оптимизационного воздействия, а также изучения фундаментальных механизмов, лежащих в его основе, является весьма перспективным и обоснованным подходом к созданию новых производственных процессов.

Таким образом, исследования по разработке новых методов повышения эффективности культивирования создают благоприятные условия для производства биотехнологической продукции, получаемой при культивировании *Escherichia coli*.

В связи с вышеизложенным, тема диссертационного исследования Кузнецова Д.Б. актуальна, так как она посвящена применению СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов.

### **Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Новизна выполненных исследований заключается в том, что автором впервые разработаны оригинальные методы повышения эффективности культивирования штаммов *E. coli* с использованием СВЧ-излучения, перспективные в производстве биопрепаратов различного назначения.

Исследован физиологический статус рекомбинантного штамма *E. coli* при воздействии на него ЭМИ с различной длиной волны и продолжительностью облучения.

Предложен новый метод восстановления индикаторных свойств цельноклеточного биосенсора после длительного хранения.

Изучено влияние микроволновой интенсификации на продукцию рекомбинантных белков.

С использованием методов математического планирования и оптимизации условий проведения эксперимента определены параметры, при которых культивирование бактериальной культуры *E. coli*, являются наиболее эффективными для увеличения прироста биомассы.

Изучены физико-химические процессы, протекающие при микроволновой обработке питательной среды и бактериальной культуры *E. coli*.

Представлено теоретическое обоснование механизмов влияния ЭМИ на метаболическую активность, бактериальную люминесценцию и изменение ростовых характеристик *E. coli*.

### **Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертации**

Полученные автором сведения расширяют знания о воздействии СВЧ-излучения на *E. coli* при её культивировании. Разработаны теоретические основы промышленной технологии и концепции устройств, позволяющие перенести лабораторные исследования в пилотное и серийное производство.

Практическая значимость работы состоит в демонстрации возможности усовершенствования методов культивирования штаммов *E. coli* путём СВЧ-облучения, которые могут быть рекомендованы для изготовления биопрепаратов. Определены параметры СВЧ-воздействия для повышения эффективности культивирования штаммов *E. coli* без негативного влияния на

продукцию рекомбинантных белков. Установлена применимость микроволновой обработки сенсорной биолюминесцентной системы «Эколюм-8» для восстановления индикаторных свойств при определении антагонистической активности пробиотиков. Разработаны теоретические основы промышленной технологии и концепции устройств, позволяющие перенести лабораторные исследования в пилотное и серийное производство.

Полученные результаты исследований использованы в образовательном процессе в рамках курса биотехнология в ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (Акт внедрения от 01.07.2022).

Результаты диссертационного исследования внедрены в работу АО «НПО Микроген» филиал в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед (Акт внедрения от 07.04.2022).

#### **Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикаций в рецензируемых изданиях**

Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему полученных данных и количеству материала, с использованием современных методов исследования (физических, физико-химических, биотехнологических, микробиологических и математических. Полученные данные согласуются между собой и с результатами других исследователей. Эксперименты проведены в достаточных повторах и с соответствующими контролями, проведена надлежащая статистическая обработка результатов.

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).

Результаты исследования и разработанный метод восстановления/усиления индикаторных свойств рекомбинантного штамма *E. coli* внедрена в работу АО «НПО Микроген» филиал в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед (акт внедрения от 07.04.2022).

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 10 статей в рецензируемых изданиях, 4 статьи – в остальных изданиях, 4 тезиса – в материалах конференций.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Разработанные в результате диссертационной работы Кузнецова Д.Б. методика восстановления индикаторных свойств цельноклеточного биосенсора может быть использована на фармацевтических предприятиях в методах оценки антагонистической активности пробиотических препаратов.

Кроме того, разработанная методика интенсификации роста бактериальных культур, а также подходы к поиску оптимальных условий облучения в практике биотехнологических и фармацевтических предприятий для получения биомассы позволит повысить эффективность производственных линий широкого спектра продукции.

Основные положения, выдвинутые автором диссертационной работы и полученные результаты, позволяют рекомендовать провести разработку новых устройств на основе биореактора, а также внедрения в производство биотехнологической продукции способов микроволновой интенсификации роста бактериальных культур.

### **Соответствие специальности**

Тема диссертации, цели, задачи, основные положения и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют научной специальности 1.5.6. – Биотехнология.

## **Оценка содержания и оформления диссертации**

Диссертационная работа изложена на 117 страницах машинописного текста и иллюстрирована 13 таблицами и 35 рисунками. Работа представлена следующими структурными элементами: введение, обзор литературы, две главы собственных исследований, заключение о выполненных исследованиях, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, изложен список обозначений и сокращений, представлен список используемой литературы, включающего 201 источника, из которых 151 зарубежных авторов.

## **Личный вклад автора в проведенное исследование**

Личное участие соискателя заключается в постановке цели, формулировке и разработке путей решения задач в рамках диссертационной работы. Результаты эксперимента, приведенные в диссертации, получены лично автором, либо при его непосредственном участии. Диссертант лично выполнил статистическую обработку полученных данных, анализ и интерпретацию результатов исследования, сделал обоснованные выводы.

Автор осуществил подготовку статей к публикации, написание глав диссертационной работы. Кузнецов Денис Бахтиерович лично участвовал в апробации результатов исследования.

## **Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации**

Представленный в диссертационной работе материал изложен последовательно и аргументированно. Тем не менее, в ходе ознакомления с диссертацией следует отметить некоторые замечания и вопросы, а именно:

1. Были ли проведены эксперименты по выделению рекомбинантного белка и его идентификации.
2. Желательно было бы представить все результаты ЯМР-релаксометрии в виде графического материала для наглядности.

Однако указанные замечания не снижают значимости диссертационной работы и не влияют на высокую оценку и благоприятное впечатление, которое производит диссертация Кузнецова Д.Б.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Дениса Бахтиеровича Кузнецова на тему: «Применение СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки), выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора, Миронова Андрея Юрьевича, является законченным научным исследованием, содержащим важные вопросы и решения. Представленная работа посвящена разработке методов оптимизации «upstream process» и восстановления индикаторных свойств цельноклеточных биосенсоров.

По актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований диссертационная работа соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Кузнецов Денис Бахтиерович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности: 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки).

Отзыв на диссертационную работу Кузнецова Дениса Бахтиеровича на тему «Применение СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов» обсужден и утвержден на заседании кафедры биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) (протокол № 8 от 12 декабря 2022 года)

**Отзыв составила:**

Заведующая кафедрой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А, +7 921 570-3040, vera.kolodyaznaya@pharminnotech.com)

кандидат биологических наук, (научная специальность - 03.00.23, Биотехнология), доцент

*В.А. Колодязная*

Колодязная Вера Анатольевна

Подпись руки

*Колодязная В.А.*

удостоверено

*21.12.2022*

Исполнитель отдела документации

*Павлова И.И.*

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

