

**Заключение комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01 при 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 по кандидатской диссертации Кузнецова Дениса Бахтиеровича на тему: «Применение СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки)**

Научный руководитель:

Миронов Андрей Юрьевич – доктор медицинских наук (03.02.03 – Микробиология), профессор, руководитель микробиологического отдела 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 (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора).

Диссертационная работа Кузнецова Д.Б., соответствует специальности: 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки).

Работа посвящена разработке способов оптимизации технологических процессов с использованием СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов.

В ходе диссертационного исследования разработан метод восстановления индикаторных свойств цельноклеточного биосенсора на основе *E. coli* с *lux*-опероном после длительного хранения и продемонстрирована его работоспособность в способе определения антагонистической активности пробиотиков. Данный способ был разработан на основе изучения реакции люминесценции биосенсора при воздействии на него электромагнитным излучением различных параметров.

Изучено влияние микроволновой интенсификации на продукцию рекомбинантных белков и установлено, что оптимальные параметры облучения не приводят к потере плазмиды и снижению их биосинтеза.

С использованием методов математического планирования и оптимизации условий проведения эксперимента определены параметры продолжительности облучения и концентрации клеток, при которых культивирование штамма *E. coli* является наиболее эффективным для увеличения прироста биомассы и продукции целевого белка.

Диссертантом проведен комплекс физических методов исследований и были получены данные, которые подверглись математической обработке и выявлены прогнозирующие переменные. Это в будущем позволит предсказывать биотехнологические эффекты с помощью компьютерного моделирования. Представлено теоретическое обоснование механизмов влияния электромагнитного излучения на метаболическую активность, бактериальную люминесценцию и изменение ростовых характеристик бактериальной культуры на основе изученных физико-химических процессов, протекающих при микроволновой обработке питательной среды и штаммов *E. coli*.

Теоретическая значимость работы состоит в разработанной научной концепции 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. Такой подход является новаторским и может быть в будущем консолидирован с вычислительными методами моделирования поверхностных процессов и молекулярно-динамического моделирования взаимодействия биополимерных структур с окружением из полярного растворителя и между собой.

Предложены оригинальные научные гипотезы, в соответствии с которыми процессы изменения подвижности протонов на интерфейсах клеток, индуцированные СВЧ-

излучением, приводят к сложным каскадным реакциям, выражающимися в изменении биологических параметров культуры бактерий.

Практическая значимость работы заключается в том, что в результате проведенных исследований изучено влияние 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*.

Изложены 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.

С помощью кластерного и регрессионного анализа изучен генезис процесса СВЧ-интенсификации бактериальной культуры и вычислены профили оптимальности концентрации клеток, при которой необходимо проводить облучение и его продолжительность.

На основании результатов исследований предложен новый метод повышения М-концентрации при культивировании *E. coli*, который позволяет увеличить прирост биомассы *E. coli* K12 TG1 до 64% и *E. coli* LEGM-18 до 81% по сравнению с контролем.

Разработанный метод восстановления индикаторных свойств биосенсора с помощью микроволнового облучения в экспериментах с тестированием антагонистической активности дал возможность оценить потенциал его использования, что может иметь ценность не только в оценке качества пробиотических препаратов, но и в методах оценки интегральной токсичности.

Разработаны теоретические основы промышленной технологии и концепции устройств, позволяющие перенести лабораторные исследования в пилотное и серийное производство.

Ценность научной работы соискателя состоит в разработке технологии интенсификации upstream process, которая заключается в применении комбинации методов культивирования на различных стадиях технологического процесса и СВЧ-облучения, что комплексно позволило создать предпосылки переноса технологии в пилотные испытания.

Диссертационная работа выполнена с использованием совокупности современных методов исследований. Достоверность результатов обеспечена достаточным массивом фактических данных, адекватно сформулированными целью и задачами, корректно проведенным статистическим анализом результатов, обоснованными выводами, положениями, рекомендациями. Научные положения и выводы, сформулированные Кузнецовым Д.Б., логически вытекают из результатов, полученных в ходе диссертационной работы.

По объему проведенных исследований, их новизне и практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.6. – Биотехнология.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Отчет о проверке на заимствования с помощью системы «Антиплагиат» на сайте [www.antiplagiat.ru](http://www.antiplagiat.ru) показал, что оригинальность текста составляет 92,81%, самоцитирование - 0%, цитирование – 0,96%, заимствование – 6,23%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы обсуждались на 5 конференциях различного уровня.

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, в том числе 10 работ в рецензируемых журналах.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Согласие ведущей организации имеется.

В качестве **официальных оппонентов** предлагается:

- Красильников Игорь Викторович – доктор биологических наук (03.00.23 - биотехнология), директор по инновациям в биотехнологии Публичного Акционерного Общества «Институт стволовых клеток человека».
- Меденцев Александр Григорьевич - доктор биологических наук (03.02.03 - микробиология), заведующий лабораторией адаптации микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН)».


Согласия оппонентов имеются.

**Заключение:** комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Кузнецова Дениса Бахтиеровича «Применение СВЧ-излучения при получении пробиотических и диагностических препаратов» по специальности: 1.5.6. – биотехнология к приему к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01:

**Председатель:**

Главный научный сотрудник  
лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук

 А.М. Затевалов

**Члены комиссии:**

Главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук, профессор РАН,  
член-корреспондент РАН

 А.В. Алешкин

Главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов  
ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук

 В.М. Лахтин

Главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук, профессор

 Г.А. Дмитриев