



Утверждаю
Директор ФГБНУ «НИИНА»
Профессор РАН, д.х.н.
А.Е. Щекотихин

2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ПО ИЗЫСКАНИЮ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ имени Г.Ф.Гаузе» о научно-практической ценности диссертации Богатыревой Алены Олеговны «Оптимизация условий биосинтеза бактериальной целлюлозы и получение на ее основе биокomпозиционных материалов с антибактериальными свойствами», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы диссертационной работы. Растущая распространенность хронических заболеваний и множественная лекарственная устойчивость микроорганизмов является одной из важнейших проблем в современной клинической практике. Несмотря на широкое применение антибиотиков, ряда других средств и методов, показатели смертности от повреждений тканей и раневых инфекций достаточно высоки, кроме того, раневая инфекция является серьезной проблемой безопасности для медицинских работников. Все это стимулирует поиск новых материалов, обеспечивающих биологическую защиту от раневых инфекций и обладающих антимикробным и ранозаживляющим действием. На современном этапе развития технологий все большее значение приобретает разработка экологически чистых материалов, источником которых служат продукты микробиологического синтеза (биополимеры). Среди применяемых и активно разрабатываемых новых биоразрушающихся полимеров, наряду с полилактидами, полиоксиалканоатами и др., важное место занимает нанокристаллическая бактериальная целлюлоза. Однако бактериальная целлюлоза не обладает антимикробными свойствами, а представляет собой

лишь физический барьер против инфекций. В связи с этим, путем модифицирования придают ей антимикробную активность для использования в качестве медицинских материалов. Все вышеперечисленное свидетельствует о том, что исследования, проведенные Богатыревой Аленой Олеговной, представляют особенный интерес и крайне актуальны.

Цель работы соискателя являлся подбор оптимальных условий культивирования продуцента бактериальной целлюлозы *Komagataeibacter sucrofermentans* В-11267 на питательных средах с низкой себестоимостью с целью эффективного производства полимера с заданными характеристиками и получение на его основе биокomпозиционных материалов с антибактериальными свойствами.

Научная новизна и практическая значимость работы

Новизна проведенных диссертантом исследований не вызывает сомнений и имеет не только прикладную, но и фундаментальную значимость с точки зрения расширения представлений о биосинтезе бактериальной целлюлозы различными бактериальными продуцентами. Автором исследован процесс биосинтеза БЦ на средах, содержащих отходы биотехнологических производств и показано увеличение выхода полимера, при этом снижение себестоимости продукта. Повышена продуктивность штамма *K. sucrofermentans* В-11267 на средах с мелассой и послеспиртовой бардой за счет использования различных эффекторов: сахаров, глицерина, органических кислот.

Впервые изучено влияние условий культивирования *K. sucrofermentans* В-11267 на выход и структуру целлюлозы в процессе масштабирования. Определены параметры культивирования, обеспечивающие максимальное накопление полисахарида. Исследованы структура и физико-химические свойства полученного полимера. Показана возможность получения БЦ с заданными свойствами (степень кристалличности, аспектное соотношение) путем изменения условий культивирования продуцента.

Впервые получены гидрогелевые композиты на основе БЦ, хитозана и фузидовой кислоты, обладающие высокой антибактериальной активностью.

Наилучшими характеристиками обладали гидрогели с соотношением БЦ:хитозан 50:50 и 20:80 с добавлением 1 % глутарового альдегида.

Диссертация состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, главы результатов исследования и обсуждения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы, приложений. Материалы диссертации изложены на 221 страницах, включают 31 таблицу, 100 рисунков, список литературы из 204 наименований, из них 15 на русском и 199 на английском языке.

Во введении дано обоснование целесообразности разработки биотехнологии бактериальной целлюлозы и расширения областей её применения. Автор в данной главе показывает, что основная цель – подобрать оптимальные условия культивирования продуцента БЦ *Komagataeibacter sucrofermentans* В-11267, с целью увеличения выхода продукта и снижения себестоимости, путем использования отходов биотехнологических производств, а также создание новых биокomпозиционных материалов на основе гидрогеля БЦ, обладающих антимикробными свойствами.

В обзоре литературы (Глава 1) подробно освещаются вопросы, касающиеся характеристики бактериальной целлюлозы строения бактериальной целлюлозы, химического состава и областей её применения, в том числе биокomпозитов и раневых покрытий на ее основе. Большое внимание уделяется видам микроорганизмов, синтезирующих этот полимер, биохимическим путям синтеза бактериальной целлюлозы у продуцентов и ферментным комплексам, ответственным за синтез полимера. Рассматривая способы получения бактериальной целлюлозы на основе продуцентов, используемых в настоящее время, автор подчеркивает, что для промышленного получения необходим скрининг штаммов, имеющих высокие показатели продуктивности и объективную оценку способности к биосинтезу полимера штаммами других видов. Отдельный раздел 1.4, при этом наблюдается увеличение посвящен анализу современных исследований по использованию ее в составе

современных биоконпозитов для медицины, антимикробных соединений, перспективных как добавки для получения такого рода материалов. В завершении обзора литературы приведено заключение, в котором автор подчеркивает значимость получения бактериальной целлюлозы и областей её использования.

В главе 2 (Объекты и методы исследования) приводится описание объектов, схем проведения исследования и используемых методов. Следует отметить, что автор использовала современные и классические методы, которые позволили ей решить поставленные задачи и получить достоверные результаты. Основной метод, который использован в биотехнологии бактериальной целлюлозы – культивирование продуцента в стационарных и динамических условиях в биореакторах различного объема. Все эксперименты проведены с достаточным числом повторностей, с оценкой воспроизводимости полученных результатов исследований, о чем свидетельствуют приведенные статистические данные в работе. В работе также продемонстрированы возможности современных физико-химических и химических методов исследования полимерных материалов.

В экспериментальной части диссертационной работы Богатыревой А.О., изложенной в **Главе 3**, представлены материалы собственных результатов, полученных диссертантом по исследованию биосинтеза бактериальной целлюлозы на различных источниках углерода, его оптимизации. В **подглаве 3.2** приведены результаты биосинтеза целлюлозы на отходах биотехнологических производств: мелассе и барде. Показано, что наибольшее количество полисахарида образуется на 3 сутки культивирования на барде с добавлением молочной кислоты. Показано, что на среде с мелассой и бардой наблюдается большая степень кристалличности БЦ (83,02 % и 82,3 % соответственно) чем на стандартной среде NS (79,7 %), при этом наблюдается увеличение выхода полимера.

Подглава 3.3. посвящена масштабированию процессов биосинтеза БЦ на отходах производств динамических системах. Несомненным достоинством этой

части работы является тщательность и последовательность в планировании экспериментов при оптимизации условий для культивирования штамма. Впечатляет объем выполненной экспериментальной части этого раздела. Из полученных автором данных следует, что при увеличении перемешивания наблюдается значительное увеличение биосинтеза целлюлозы. Подобраны режимы аэрации, перемешивания, содержание источников азота и углерода, а также витаминов для наибольшего выхода полимера. Различными методами (рентгеноструктурный анализ, атомно-силовая микроскопия, ИК – спектрометрия) проведена сравнительная оценка качества получаемого полимера. В **Подглаве 3.4.** представлены подробные результаты по антимикробной активности полученных автором биоконпозитов с целлюлозой, хитозаном и фузидиевой кислотой.

Выводы приведены в конце работы, соответствуют поставленным в начале исследований автором задачам, обоснованы, достоверно отражают полученные автором результаты.

Соответствие содержания автореферата основным идеям и выводам диссертации

Автореферат диссертации Богатыревой А.О. целиком отражает ее содержание; в нем изложены основные положения работы. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, в числе которых 2 статьи в российских научных журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в иностранном научном журнале, входящем в реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science, Scopus, а также 1 патенте. Основные результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на семи конференциях, форумах, конкурсах и конгрессах.

Замечания и вопросы по работе:

Однако, несмотря на бесспорное достоинство данной работы, вносящей значительный практический вклад в развитие тематики биосинтеза бактериальной целлюлозы и разработке композитов с антибактериальными свойствами на ее основе, при общей, несомненно, положительной оценке

диссертации Богатыревой А.О. имеются следующие замечания, вопросы и пожелания:

1. Ошибочное написание «Грам положительных» и «Грам отрицательных» вместо грамположительных и грамотрицательных бактерий по тексту диссертации. Встречаются и другие единичные опечатки, но их мало и они не мешают восприятию текста.

2. Глава 2 методы, раздел «2.2.11 Определение антибактериальной активности гидрогелей» не указано происхождение тест - штаммов бактерий, на которых определяли антибактериальные свойства гидрогелей (взяты из чьих – то коллекций?, выделены автором?).

3. Чем обусловлены рекомендованные автором в подглаве 3.3. разные оптимальные режимы и выбор добавок и питательных сред для биореакторов разного объема при масштабировании процессов культивирования продуцента? В этом разделе также желательно было бы привести технологическую схему получения БЦ в биореакторе.

4. В таблицах 26, 27 и 28 автор приводит значения диаметра подавления активности тест-организмов без учета диаметра лунки. Как правило, диаметр лунки учитывается при измерении. В таблицах также указана единица измерения на 1 см^2 , вместо мм диаметра зоны ингибирования. Чем обусловлен выбор фузидиевой кислоты в комплексе с хитозаном для подавления грамотрицательных тест-организмов, если известно, что она не оказывает на них активность?


Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.06 – «биотехнология (в том числе бионанотехнологии)» (по биологическим наукам). Научная новизна и научно-практическая значимость работы, актуальность рассматриваемых вопросов и достоверность исследований позволяет сделать заключение, что диссертационная работа отвечает всем требованиям, установленным в п.9

«Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года, №842, а ее автор, Богатырева Алена Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологически наук по специальности 03.01.06 – «биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Доктор биологических наук, доцент, заместитель директора по научной работе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»


 Садыкова В. С.

Подпись Садыковой В.С. заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ «НИИНА», к.х.н.

 О.В. Кисиль

Отзыв на диссертацию обсужден и утвержден на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф.Гаузе", текст отзыва принят единогласно (протокол № 4 от 27.04.2021г).

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИНА», к.х.н.

 О.В. Кисиль

Адрес организации: 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»

Тел. (499)246-9980 Факс (499)245-0295 e-mail: instna@sovintel.ru