

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО  
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Дата защиты 23 июня 2016 г. протокол № 19

О присуждении **Демидовой Елизавете Вячеславовне**

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изучение воздействия терагерцового излучения на *Escherichia coli* при помощи геносенсоров» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 21.04.2016, протокол № 13, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр.ак. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утвержден ВАК 15.01.2010 приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

**Соискатель:** Демидова Елизавета Вячеславовна, 1987 года рождения, в 2010 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск.

С 25.05.2015 г. по 25.06.2015 г. Демидова Е. В. была прикреплена к аспирантуре Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и

генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в качестве экстерна для прохождения промежуточной аттестации по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки, по научной специальности 03.02.07 – генетика, и успешно сдала кандидатские экзамены. Приказом № 417 от 23.12.2015г. Демидова Е.В. была прикреплена к ИЦиГ СО РАН для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика. В настоящее время Демидова Е. В. работает в должности старшего лаборанта в лаборатории молекулярных биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель: **Сергей Евгеньевич Пельтек** - кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярных биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

- 1) **Ольга Павловна Черкасова** - доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт лазерной физики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.
- 2) **Сергей Львович Киселев** - доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией эпигенетики Федерального государственного

бюджетного учреждения науки «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук», г. Москва.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск. В положительном заключении, подписанном заведующим лабораторией хромосомной инженерии, д.б.н. С.А. Демаковым, и утвержденном директором ИМКБ СО РАН, Академиком РАН, д.б.н. И.Ф. Жимулёвым, указано, что «диссертация Демидовой Е. В. «Изучение воздействия терагерцового излучения на *Escherichia coli* при помощи геносенсоров», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-исследовательской работой,...», и «... по актуальности, новизне, практической ценности результатов, объему, методическому уровню проведенных исследований, работа Демидовой Е. В. полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических по специальности 03.02.07 – генетика». Отзыв обсужден и утвержден на заседании семинара лаборатории хромосомной инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, протокол № 5 от 31 мая 2016 г.

Соискатель имеет 8 опубликованных работ, из них по теме диссертации 6 работ, общим объемом 17 страниц, в том числе 2 статьи, опубликованные в научных рецензируемых изданиях и 4 тезиса в материалах международных и российских конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. **Demidova E.V.**, Goryachkovskaya T.N., Malup T.K., Bannikova S.V., Semenov A. I., Vinokurov N.A., Kolchanov N.A., Popik V.M., Peltek S.E. Studying the non-thermal effects of terahertz radiation on *E. coli/pKatG-GFP* biosensor cells// Bioelectromagnetics. – 2013. – Vol.34 (1). – P. 15-21.
2. **Demidova E.V.**, Goryachkovskaya T.N., Mescheryakova I.A., Malup T.K., Semenov A.I., Vinokurov N.A., Kolchanov N.A., Popik V.M., Peltek S.E. Impact of terahertz radiation on stress-sensitive genes of *E.coli* cell// IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology. – 2016. – DOI 10.1109/TTNZ.2016.2532344.

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные.  
Отзывы прислали:

1. Меркулова Т.И. – д.б.н., профессор, зав. лабораторией регуляции экспрессии генов, лабораторией эпигенетики стресса Федерального исследовательского центра Институт Цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск).
2. Гольцман Г.Н. – д.ф.-м.н.; профессор, зав. Кафедрой общей и экспериментальной физики Московского педагогического государственного университета, (г. Москва).
3. Дубина М.В. – д.м.н., член-корреспондент РАН, зав. Лабораторией нанотехнологий, Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН» Минобрнауки России, (г. Санкт-Петербург).
4. Пальчикова И.Г. – д.т.н., зав. лабораторией 1-3 Федерального государственного бюджетного учреждения науки «конструкторско-технологический институт научного приборостроения СО РАН», (г. Новосибирск).

«...В качестве замечания необходимо отметить особенность, которая

является одновременно и преимуществом и недостатком работы. А именно, в экспериментах проводились измерения исключительно флюоресценции белка GFP в клетках геносенсора. Применения других физических методов исследования, например, ИК-спектроскопии позволило бы получить интересную дополнительную информацию относительно структурных изменений, индуцируемых в изучаемых средах терагерцовым излучением...»

На все замечания Демидовой Е.В. были даны убедительные ответы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики и биофизики, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтов в нашей стране по изучению молекулярной генетики и имеет работы, связанные с использованием флюоресцентного белка GFP.

**Диссертационный совет отмечает, что** на основании выполненных соискателем исследований **доказано**, что нетермическое воздействие терагерцового излучения на культуру клеток *Escherichia coli* приводит к активации в клетках молекулярно-генетических систем окислительного стресса, гомеостаза ионов меди и метаболизма аминокислот. Доказано, что этот эффект связан с модификацией органических составляющих минимальной культуральной среды M9 возникающей в результате ее облучения терагерцовым излучением.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем**, что впервые **изучены** эффекты нетермического воздействия терагерцового излучения на культуру клеток бактерий в модельных экспериментах с использованием геносенсоров – штаммов рекомбинантных клеток *E. coli*, несущих генетические конструкции, содержащие под контролем промоторов

генов стрессового ответа (*katG*, *copA*, *emrR*) и метаболизма аминокислот (*glnA*) ген *gfp*, кодирующий флюоресцентный белок GFP.

**Доказано**, что нетермическое воздействие терагерцового излучения индуцирует флюоресцентный ответ в рекомбинантных клетках *E. coli* – геносенсорах на основе промоторов генов *katG*, *copA* и *glnA* после их однократного облучения терагерцовым излучением. **Доказано**, что нетермическое воздействие терагерцового излучения на геносенсор окислительного стресса имеет пороговый эффект. **Доказано** отсутствие влияния терагерцового излучения на флюоресценцию клеток геносенсора на основе промотора гена *emrR*, являющегося маркером системы детоксикации антибиотиков.

Впервые **изучено** нетермическое воздействие терагерцового излучения как непосредственно на бактериальные клетки, так и на среду, в которой эти клетки культивировали. **Доказано**, что добавление облученной минимальной культуральной среды М9 к необлученным клеткам индуцирует развитие флюоресцентного ответа у клеток–геносенсоров, а помещение облученных клеток–геносенсоров в необлученную среду – не индуцирует. **Доказано**, что фактор, активирующий флюоресценцию геносенсоров, образуется в культуральной минимальной среде под нетермическим воздействием терагерцового излучения и связан с модификацией глюкозы и казаминовых кислот.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем**, что впервые разработаны геносенсорные конструкции на основе промоторов генов *copA* и *glnA* *E. coli*, которые могут быть использованы для тестирования влияния различных агентов на бактериальные генетические системы гомеостаза меди и метаболизма аминокислот.

Полученные данные могут также служить основой для тщательного тестирования приборов на основе терагерцового излучения, внедряемых в практическое применение, с целью установления санитарных норм облучения. Эффект, обнаруженный в отношении влияния терагерцового излучения на культуральную среду, предполагает также разработку таких норм и для материалов, которые подвергались облучению.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического профиля, изучающих вопросы воздействия излучений на живые объекты, и могут быть использованы в образовательном процессе на биологических факультетах высших учебных заведений.

**Применительно к проблематике диссертации результативно** использованы современные методы генной инженерии, а также классические микробиологические методы, позволившие изучить нетермическое воздействие терагерцового излучения на экспрессию ряда молекулярно-генетических систем стрессового ответа у *E. coli*.

**Оценка достоверности результатов исследования** выявила высокую воспроизводимость полученных данных и наличие всех экспериментальных контролей. В работе использованы методики, адекватные поставленным задачам, результаты экспериментальных этапов работы получены с использованием современного сертифицированного оборудования и могут быть использованы другими исследователями.

Интерпретация результатов о воздействии нетермического терагерцового излучения на клетки *E. coli* учитывает данные в отношении воздействия излучения на живые объекты, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

**Личный вклад автора** состоит в непосредственном участии автора в конструировании геносенсорных конструкций на основе промоторов генов

*copA* и *glnA*, измерении динамики флюоресцентного ответа, а также анализе данных на всех этапах работы, интерпретации полученных результатов и подготовке публикаций по выполненной работе. Облучение клеточных культур и минимальной культуральной среды проводилось на специально оборудованной биологической станции при участии сотрудников Института цитологии и генетики СО РАН и Института ядерной физики СО РАН.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 10. «Генетическая клеточная инженерия. Трансгенные организмы», паспорта специальности 03.02.07 — генетика.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 23 июня 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Демидовой Елизавете Вячеславовне учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 7 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за — 19, против — 2, недействительных бюллетеней — нет.

Председатель  
диссертационного совета,  
академик РАН  
Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук



В.К. Шумный

Т.М. Хлебодарова

23.06.2016 г.