

## **Заключение диссертационного совета**

**99.0.064.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук**

**аттестационное дело № \_\_\_\_\_**

**решение диссертационного совета от 15 марта 2022 г., №8**

О присуждении Югай Юлии Анатолиевне, российское гражданство, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Использование клеточных культур растений для получения биологически активных наночастиц металлов» по специальности 1.5.6 – Биотехнология принята к защите 6 декабря 2021 г., протокол №3, диссертационным советом 99.0.064.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-тия Владивостока, 159, №1108/нк от 16.11.2017 г.

Соискатель Югай Юлия Анатолиевна, 18 мая 1992 года рождения. В 2017 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», в 2021 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН. Работает младшим научным сотрудником в лаборатории бионанотехнологий и биомедицины ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН с 2019 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории бионанотехнологий и биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Шкрыль Юрий Николаевич, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории бионанотехнологий и биомедицины.

Официальные оппоненты:

Кусайкин Михаил Игоревич, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории химии ферментов;

Шевцов Максим Алексеевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии» РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории защитных механизмов клетки дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение УФИЦ РАН, г. Уфа в своем положительном заключении, подписанном д.б.н., ведущим научным сотрудником лаборатории геномики растений Кулуевым Булатом Разяповичем, что «диссертационная работа представляет собой трудоемкое, грамотно построенное и завершенное исследование. Работа вносит существенный вклад в понимание процесса формирования наночастиц металлов. Полученные сведения о свойствах наночастиц могут служить основой для применения наночастиц в биотехнологии, сельском хозяйстве, а также в медицине и фармацевтике. Работа представляет собой законченное научное исследование и отражает высокую квалификацию исследователя. По актуальности темы, степени новизны, значимости научных результатов диссертация отвечает требованиям

п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 –Биотехнология (биологические науки)».

Соискатель имеет 8 опубликованных работ, все работы по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 работы, общим объемом 56 стр., 4 работы опубликованы в региональных, международных конференций, общим объемом 6 стр.

Наиболее значительные работы:

1. **Yugay Y.A.**, Usoltseva R.V., Silant'ev V.E., Egorova A.E., Karabtsov A.A., Kumeiko V.V., Ermakova S.P., Bulgakov V.P., Shkryl Y.N. Synthesis of bioactive silver nanoparticles using alginate, fucoidan and laminaran from brown algae as a reducing and stabilizing agent // *Carbohydrate Polymers*. – 2020. – V. 245. – P. 116547.

2. Shkryl Y., Rusapetova T., **Yugay Y.**, Egorova A., Silant'ev V., Grigorchuk V., Karabtsov A., Timofeeva Y., Vasyutkina E., Kudinova O., Ivanov V., Kumeiko V., Bulgakov V. Biosynthesis and cytotoxic properties of Ag, Au, and bimetallic nanoparticles synthesized using *Lithospermum erythrorhizon* callus culture extract // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – V. 22. – P. 9305.

3. **Yugay Y.**, Rusapetova T., Mashtalyar D., Grigorchuk V., Vasyutkina E., Kudinova O., Zenkina K., Trifuntova I., Karabtsov A., Ivanov V., Aseeva T., Bulgakov V., Shkryl Y. Biomimetic synthesis of functional silver nanoparticles using hairy roots of *Panax ginseng* for wheat pathogenic fungi treatment // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2021. – V. 207. – P. 112031.

На автореферат поступило 6 положительных отзывов из следующих организаций: филиала Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Горнотаёжная станция им. В.Л. Комарова (д.б.н., проф., руководитель научного направления Зориков П.С.); Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (к.б.н., с.н.с. лаб. клеточных технологий Яковлев К.В.); 2 отзыва из Дальневосточного федерального университета (к.б.н., н.с. лаб. биомедицинских

клеточных технологий Гончаров Н.В.), (к.б.н., доц. каф. биохимии и биотехнологии Помазёнок Л.А.); Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (к.б.н., н.с. лаб. гидрохимии Уланова О.А.); Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (к.х.н., н.с. лаб. молекулярных основ антибактериального иммунитета Кравченко А.О.).

Имеются замечания и вопросы:

в отзыве к.б.н. Кравченко А.О., ТИБОХ ДВО РАН

«в разделе «Объекты и методы исследований» автор пишет, что в качестве предшественника выступает хлороводородная кислота, а в скобках приведена формула золотохлористоводородной кислоты и далее в результатах идет правильное упоминание названия. В названии рисунка 2 спектры поглощения наночастиц на основе серебра и золота обозначены буквами «А» и «Б», тогда как на самом рисунке обозначены как «I» и «II». По тексту автореферата упоминаются номера рисунков, которые не представлены в самом автореферате, скорее всего, относятся к тексту диссертации. В разделе про восстановительную активность дельных компонентов каллусной культуры *L. erythrorhizon* не совсем понятно, как оценивали количество углеводов и как получали молекулярную фракцию веществ. Возможно, эти данные представлены в тексте самой диссертации и не вошли в автореферат. В разделе о наночастицах с полисахаридами водорослей вместо *Fucus evanescence* стоит *Fusarium evanescence*. В таблице 1 концентрация элиситора выражена в мг/мл, а по тексту в мкг/мл. В заключении немного перепутана восстановительная последовательность полисахаридов водорослей по сравнению с тем, что написано в результатах».

в отзыве к.б.н. Помазёнок Л.А., ДВФУ

«Исследовал ли автор вопрос о том, какие именно составляющие спектра ответственны за активацию синтеза НЧ в наибольшей степени? Уместным было бы сравнение в данных экспериментах с коммерческими традиционными

серебросодержащими препаратами и коммерческими препаратами НЧ серебра».

в отзыве к.б.н. Яковлева К.В., ННЦМБ ДВО РАН

«замечания касательно интерпретации полученных результатов и оформления автореферата. При анализе белковой фракции культуры воробейника методом электрофореза в денатурирующих условиях (Рисунок 5) автор предполагает, что в пробе произошла частичная деградация белка. Это умозаключение мне кажется недостаточно очевидным, так как нечеткое разделение белковых полос и размытость окраски на дорожке также могут быть следствием ряда других причин: избыточного нанесения белка на дорожку, агрегации белков при термической подготовке проб или же наличия в большом количестве таких примесей, как липиды и полисахариды. Я нахожу этот вопрос достаточно принципиальным ввиду того, что по представленным результатам белковая фракция обладает более низкой восстановительной способностью по сравнению с полисахаридами и вторичными метаболитами. На мой взгляд, остается неясным, чем обусловлена их более низкая восстановительная способность по сравнению с вторичными метаболитами: химическими свойствами белков этой фракции или из-за снижения их функциональной активности вследствие частичной деградации, наличие которой необходимо дополнительно подтвердить. Имеются редакционные правки»

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования, имеющие научные школы, способные определить научную и практическую ценность диссертации, давшие своё согласие (пп. 22,24 Положения от 24.09.2013 г., №842).

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработан эффективный биогенный способ получения наночастиц серебра, золота и биметаллов серебро/золото с использованием клеточных культур лекарственных растений;**

**предложены** различные способы оптимизации метода получения наночастиц серебра, а также новые генно-инженерные способы увеличения восстановительной способности клеточных культур посредством модификации их первичного и вторичного метаболизма;

**доказана** зависимость восстановительной активности от состава и биохимических свойств экстрактов клеточных культур.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**доказан** вклад активных биомолекул клеточных культур лекарственных растений обуславливать эффективное формирование биологически активных монометаллических и биметаллических наночастиц. Впервые установлена возможность использования метода трансгенной модификации растительных клеток для активации восстановительного потенциала культивируемых клеток растений в отношении биологического способа получения наночастиц;

**применительно к проблематике диссертации эффективно использованы** современные биотехнологические методы культивирования растительных клеток в условиях *in vitro*, методы генетической инженерии растений для увеличения параметра накопления наночастиц серебра, методы анализа физико-химических и биологических свойств, полученных наночастиц металлов;

**изложены** результаты исследования по влиянию различных факторов на эффективность биогенного получения наночастиц, подробно охарактеризованы их свойства и предложены способы их использования в биомедицине, биотехнологии и сельском хозяйстве;

**раскрыт** вклад отдельных фракций белков, полисахаридов, нуклеиновых кислоты и вторичных метаболитов клеточной культуры воробейника краснокорневого, в процессы накопления металлических наночастиц;

**изучены** особенности формирования биогенных наночастиц металлов с участием экстрактов клеточных культур растений и их отдельных компонентов, а также их основные физико-химические и биологические свойства.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**определены** перспективные области для практического применения наночастиц серебра: в биотехнологии, для увеличения продукции вторичных метаболитов клеточными культурами растений, в сельском хозяйстве, в качестве фунгицидных агентов, а также в медицине, в качестве антибактериальных и противоопухолевых агентов;

**создан** эффективный метод получения наночастиц металлов с использованием клеточных культур растений;

**представлены** способы генетической модификации первичного и вторичного метаболизма клеточных культур растений, которые позволяют увеличить биосинтез наночастиц.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**для экспериментальных работ** использован широкий спектр методов исследования с привлечением современной приборной базы. Все эксперименты логично спланированы, а результаты имеют высокую степень воспроизводимости;

**теоретические выкладки**, представленные диссертантом, согласуются с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

**идея** основывается на оценке мировой практики изучения биогенных способов получения наночастиц металлов;

**использованы** и обобщены данные по биогенному получению наночастиц металлов с использованием более 100 видов растений, включая современную литературу по теме исследования, что позволило соискателю подобрать оптимальный метод синтеза монометаллических наночастиц серебра, золота и биметаллических наночастиц серебро/золото в различных соотношениях. Кроме того, анализ физико-химических и биологических свойств, полученных наночастиц, проведен с привлечением новейшей приборной базы, использованы статистические методы, подтверждающие высокий уровень достоверности, полученных результатов.

**Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования и подготовки диссертации.** Соискатель самостоятельно проводила углубленный анализ отечественной и зарубежной литературы, участвовала в планировании научной работы, принимала непосредственное участие в получении и культивировании клеточных культур растений, бактерий, и млекопитающих в условиях *in vitro*, самостоятельно изучила различные факторы, влияющие на продуктивность синтеза наночастиц металлов. Кроме того, соискатель проводила первичную пробоподготовку для трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии, для рентгеноструктурного анализа, а также для энергодисперсионной спектроскопии и ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье. Спектрофотометрический анализ и анализ траектории броуновского движения наночастиц в растворе, измерение дзета-потенциала проводила самостоятельно. Соискателем лично были проведены работы, связанные с выделением и определением изолятов микрофлоры, работы по установлению элиситорной, антибактериальной, фунгицидной активностей, полученных наночастиц, в том числе и практическом их применении в качестве стерилизующих агентов. Соискатель лично участвовала в обработке и интерпретации экспериментальных данных и подготовке публикаций по выполненной работе.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, п. 9, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. При обсуждении полученных результатов необходимо сравнить значения параметров разработанной методики с существующими аналогами.
2. Необходимо предоставлять данные о сроках в течении которых полученные наночастицы будут сохранять свои активные свойства.

3. Данные о реакционной способности экстрактов, использующихся для получения наночастиц, необходимо предоставить в табличном виде.

Соискатель Югай Ю.А. ответила на все вопросы, привела собственную аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласилась с критическими замечаниями.

На заседании 15 марта 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Югай Ю.А. ученую степень кандидата биологических наук за вклад в решение задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук по специальности биотехнология, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 14, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель  
диссертационного совета,  
академик РАН



Журавлев Юрий Николаевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета,

к.б.н.

17.03.2022 г.



Тюнин Алексей Петрович