

ПРОТОКОЛ № 133г

заседания диссертационного совета Д 212.243.05

на базе Саратовского государственного университета имени Н.Г.Чернышевского

от 17.02. 2015 г.

*Присутствовали:* 17 членов совета из 25 , в том числе 4 доктора наук по специальности 03.01.02 – биофизика (физико-математические науки)

*Председательствующий* – д. ф.-м. н., профессор В.С. Анищенко

*Ученый секретарь совета* – В.Л. Дербов

ПОВЕСТКА ДНЯ

**Принятие к защите диссертации**

Ерохина Павла Сергеевича «Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы» на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика

Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники физического факультета Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского.

Научный руководитель – д. ф.-м. н., профессор, зав. кафедрой оптики и биофотоники Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского Тучин Валерий Викторович.

*Слушали:*

Члена комиссии совета профессора Ю.П. Синичкина, представившего положительное заключение комиссии в составе членов совета профессоров, Ю.П. Синичкина, В.И. Кочубея и В.П. Рябухо по диссертационной работе (заключение прилагается).

Тема и содержание диссертации соответствует специальностям 03.01.02 – биофизика (физико-математические науки).

Результаты, изложенные в диссертации и автореферате, достаточно полно отражены в печати. Автором опубликовано 22 печатные работы, 5 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК. Диссертация удовлетворяет требованиям, изложенным в пунктах 9, 11 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а также требованию пункта 14 указанного «Положения».

*Постановили (открытым голосованием, единогласно):*

1. Принять диссертацию Ерохина Павла Сергеевича «Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы» к защите на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 –биофизика
2. Назначить ведущей организацией ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» (г. Саратов).
3. Назначить официальными оппонентами доктора физико-математических наук, профессора, зав. кафедрой «Информационная безопасность автоматизированных систем» ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.» Байбурина Вила Бариевича и доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории нанобиотехнологии ФГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук» Дыкмана Льва Абрамовича.
4. Назначить дату и время защиты 28 апреля 2015 г. в 15:30.

5. Разрешить печатать автореферат и произвести его рассылку по обязательным адресам, адресам диссертационных советов по специальности диссертации, в адреса организаций и специалистов по профилю диссертации.
6. Разместить объявление и автореферат на сайте Минобрнауки РФ.
7. Разместить объявление, автореферат, диссертацию и всю документацию, предусмотренную «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и Приказом Минобрнауки РФ от 16.04.2014 № 326, на сайте СГУ и в системе ЕГИСМ.

Председатель диссертационного совета

В.С. Анищенко

Ученый секретарь диссертационного совета

В.Л. Дербов



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

комиссии диссертационного совета Д.212.243.05 на базе ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по диссертационной работе Ерохина Павла Сергеевича «Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук  
по специальности 03.01.02 – Биофизика

Диссертация П.С. Ерохина «Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы» выполнена на кафедре оптики и биофотоники ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского». Научный руководитель – д.ф.м.н., профессор, профессор кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», заведующий кафедрой оптики и биофотоники Тучин Валерий Викторович.

В последние годы возрастает интерес исследователей к использованию атомно-силовой микроскопии (АСМ) при изучении микроорганизмов, так как этот тип микроскопии позволяет получать комплексную надежную количественную информацию о физической природе процессов, протекающих в биологических объектах.

В то же время имеющиеся данные свидетельствуют и о возможных ограничениях или искажениях результатов АСМ. Некоторые проблемы возникают при применении методов СЗМ при работе с возбудителями инфекционных заболеваний, поскольку подразумевается выполнение ряда дополнительных мер, обеспечивающих биологическую безопасность исследователя, но сохраняя при этом морфологию и ультраструктуру микроорганизма.

Использование АСМ при решении вопросов, связанных с изучением морфо-функциональных особенностей бактериальных клеток, как в физиологическом состоянии, так и при воздействии различных факторов, а также особенностей формирования микробных сообществ (биопленок) является актуальным направлением развития современных методов микробиологического исследования. Проведение атомно-силовой микроскопии биологических объектов предполагает оптимизацию методических подходов для получения четких, информативных данных.

В диссертационной работе получен ряд важных результатов, имеющих научную новизну:

Разработан алгоритм определения оптимальных диапазонов основных параметров сканирования (**Amplitude, Phase, Frequency, Set Point, FB Gain**) для изучения морфо-функциональных характеристик микроорганизмов и их сообществ (биопленок) с помощью АСМ.

Разработана методика обработки АСМ изображений микробиологических объектов с использованием модуля **Image Analysis**, включающая этапы, которые способствуют получению объединенного изображения более высокого качества и содержащего полную информацию об образце.

Показано, что аддитивные (неинвазивные) методы фиксации не меняют морфологии клетки, а методы денатурирующей фиксации искажают особенности морфологии и ультраструктуры клеток микроорганизмов. Продемонстрирована возможность использования аддитивных методов фиксации при исследовании с помощью АСМ микроорганизмов I-IV групп патогенности.

С применением АСМ оценена морфо-функциональная реакция бактериальных клеток *E.coli* на воздействие антибиотика Цефазолин-АКОС. Показано, что под влиянием антибиотика формируется гетерогенность морфологических свойств популяций *E.coli* и дезорганизация поверхностных клеточных структур. Дозы антибиотика, не вызывающие глубоких нарушений, способствуют образованию микробных биопленок.

Комплекс трех количественных показателей (индекса I, определяющего защиту бактериальной клетки, шероховатости, силы адгезии) позволяет достоверно и объективно выявлять различия в морфологических, геометрических, механических характеристиках (индекс I, шероховатость, сила адгезии) бактерий организованного сообщества микроорганизмов (биопленки).

Полученные в диссертационной работе результаты могут быть использованы в научных исследованиях при выявлении и характеристике субклеточных структур микроорганизмов и микробных сообществ – биопленок, получая их биофизические характеристики. Кроме того, результаты работы дают возможность тестирования новых химических соединений в качестве антибактериальных, антисептических и дезинфицирующих средств на основе широкого спектра биофизических показателей.

Комиссия пришла к выводу, что представленная диссертация соответствует специальности 03.01.02 – биофизика (физико-математические науки). Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи биофизики, связанной с использованием атомно-силовой микроскопии в качестве инструмента определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы.



Результаты исследований, изложенные в диссертации и автореферате диссертации, достаточно полно отражены в печати. Автором опубликовано 22 научные работы, 5 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК.

Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались на следующих конференциях:

1) Ежегодных симпозиумах и конференциях по электронной микроскопии Российской академии наук (Черноголовка 2010, 2011, 2013, 2014 гг.),

Международных конференциях:

- 2) «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2010 г.);
- 3) «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине» (Саратов, 2011 г.);
- 4) «Математические методы в технике и технологиях - 25» (Саратов, 2012-2013 гг.);
- 5) «Современные биоинженерные и ядерно-физические технологии в медицине» (Саратов, 2012);
- 6) «Нанотехнологии – производству» (Фрязино, 2013 г.);
- 7) «Современные технологии в совершенствовании мер предупреждения и ответных действий на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера» (Саратов, 2012 г.);
- 8) «Окружающая среда и здоровье» (Саратов, 2012 г.);
- 9) «Современные достижения бионаноскопии» (Москва, 2014 г.).

Диссертационная работа удовлетворяет требованиям, изложенным в пунктах 9,11 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, количество публикаций в рецензируемых изданиях является достаточным для представления диссертации к защите на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук.

При использовании результатов исследований других авторов, соискатель ссылается на источник заимствований. В диссертации приведен список использованной литературы, а также список статей, опубликованных по теме диссертации. В диссертации указан личный вклад соискателя и вклад соавторов публикаций в проведенные исследования. Таким образом, диссертация соответствует требованиям пункта 14 упомянутого ранее «Положения о присуждении учёных степеней».

#### **Комиссия рекомендует:**

1. Принять диссертацию Ерохина Павла Сергеевича «Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы» к защите на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – биофизика в диссертационном совете

Д.212.243.05 на базе ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г.Чернышевского».

2. В качестве ведущей организации назначить ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

3. В качестве официальных оппонентов рекомендуются:

- доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры «Информационная безопасность автоматизированных систем», заведующий кафедрой «Информационная безопасность автоматизированных систем» ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.» Байбурин Вил Бариевич;
- доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук» Дыкман Лев Абрамович.

Д.ф.-м.н., профессор

Д.ф.-м.н., профессор

Д.ф.-м.н., профессор



Ю.П. Синичкин

В.И. Кочубей

В.П. Рябухо