

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Манухова Ильи Владимировича
на диссертационную работу Емельянцева Сергея Александровича «Влияние фуллерена C₆₀ на экспрессию генов *Escherichia coli*, ассоциированных с окислительным стрессом», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационное исследование Емельянцева Сергея Александровича посвящено изучению фуллерена C₆₀ на экспрессию генов антиоксидантной системы защиты *Escherichia coli*, а также проблеме влияния растворителей наночастиц на биологические свойства данных наночастиц. Изучение эффектов разных солубилизаторов позволяет объяснить известный эффект variability их свойств: в одних исследованиях C₆₀ демонстрирует антиоксидантную и геропротекторную активность, а в других — отсутствие биологической активности или токсичность.

Научная новизна.

Впервые показано влияние растворителя на отсутствие или наличие биологической активности фуллерена C₆₀.

В работе впервые показано, что сурфактин, поверхностно-активное вещество, производимое сурфактин-синтетазой из *Bacillus subtilis*, увеличивает биодоступность фуллерена C₆₀ для *Escherichia coli*. Впервые показано, что C₆₀ в водном растворе сурфактина проявляет антиоксидантную, ДНК-протекторную и антимуtagenную активность в модели *E. coli*.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Впервые применён физиологически совместимый солубилизатор бактериального происхождения (сурфактин) для растворения фуллерена C₆₀. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы для разработки новых фармакологических препаратов антиоксидантного действия.

Степень достоверности и апробация результатов исследований.

По результатам диссертационного исследования опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 статьи в научных изданиях, включенных в мировые базы научного цитирования (Web of Science, Scopus, RSCI), 2 публикации в сборниках трудов конференций.

Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа изложена на 151 странице машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы. Диссертация содержит 69 рисунков, 3 таблицы. Список литературы включает 231 источник.

Введение раскрывает актуальность темы исследования, уделяя внимание противоречивым данным об антиоксидантной активности и токсичности фуллерена C₆₀, что хорошо иллюстрируется обзором литературы. Обоснована целесообразность применения биосовместимых водных растворов с использованием солубилизатора бактериального происхождения — сурфактина, для повышения биодоступности и

расширения спектра биологических эффектов. Четко сформулированы цель и основные задачи исследования. Изложены степень новизны полученных результатов, практическая ценность и их апробация. Таким образом, введение иллюстрирует глубокий анализ темы исследования, научную новизну результатов и обосновывает положения, выносимые на защиту.

Глава 1 диссертации «**Обзор литературы**» посвящена обзору научной литературы по теме исследования и включает анализ уже имеющейся информации о структуре, химических и биологических свойствах фуллерена C_{60} и его производных; о сурфактине как мембранотропном поверхностно-активном веществе; антиоксидантах и их классификации; *E. coli* как модельном организме; методах исследований, применённых в работе.

В главе 2 «**Материалы и методы исследования**» автор описывает методы приготовления водных растворов немодифицированного C_{60} , способ синтеза его полигидроксилированного производного, применённые методы спектрофотометрии и динамического рассеяния света, методики оценки экспрессии с помощью биолюминесцентного теста и определения антимуtagenной активности, методы статистической обработки результатов.

В главе 3 «**Результаты исследования**» автор приводит собственные полученные результаты и их анализ. Представлены распределение размеров C_{60} в водных суспензиях с солюбилизаторами: TWEEN 80 и сурфактина. Определена биосовместимая концентрация сурфактина, не снижающая рост *E. coli*, выявлено дозозависимое повреждение мембран бактерий при повышенных концентрациях сурфактина. Биолюминесцентные тесты на генноинженерных штаммах *E. coli* показали, что C_{60} в сурфактине оказывает статистически значимый ДНК-протекторный и антиоксидантный эффекты, снижая экспрессию генов SOS-ответа (штаммы с плазмидами pRecA-lux, pColD-lux), что не наблюдается в суспензиях с TWEEN 80 и окислительного стресса (штаммы с плазмидами pKatG-lux, pSoxS-lux). Показано, что сурфактин как солюбилизатор повышает биодоступность фуллерена C_{60} , но не проявляет собственную антиоксидантную и ДНК-протекторную активность. Также приведены данные о значительном снижении спонтанного и индуцированного мутагенеза бактерий *E. coli* под воздействием фуллерена C_{60} в растворе сурфактина. Путём гидроксилирования фуллерена получен фуллеренол $C_{60}(OH)_{36}$ и описана его характеристика с помощью спектроскопии в УФ-видимой области, показывающая изменение оптических свойств после гидроксилирования. Экспериментальная часть работы изложена последовательно и логично.

В главе 4 «**Обсуждение**» проведено обобщение наиболее значимых результатов, полученных в ходе исследования, рассмотрены физико-химические и биологические механизмы антиоксидантной и антимуtagenной активности C_{60} . Рассмотрено влияние сурфактина на суспензии фуллерена и механизмы повышения биодоступности C_{60} .

Диссертационную работу завершают выводы, заключение, список использованной литературы.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям положения о порядке присуждения научным и научно-педагогическим работникам ученых степеней и присвоения научным работникам ученых званий. Диссертация Емельянцева С.А. является завершенной научно-исследовательской работой. Диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Автореферат достаточно полно отражает содержание и основные положения представленной диссертационной работы.

Вопросы по содержанию диссертации.

1. Имеется вопрос, на который хотелось бы услышать объяснение: почему усиливают генотоксическое действие диоксидина только концентрации сурфактина в 50 и 312,5 мг/л, а при этом промежуточная концентрация 100 мг/л эффекта не показывает?

Замечания по диссертационной работе. Принципиальных вопросов и замечаний к диссертационной работе не имеется. Имеются опечатки, например:

1. На странице 12, в разделе «Открытие фуллерена C₆₀», опечатка в слове «бакминстерфуллерен» — общепринятое название «бакминстерфуллерен».

2. Фраза «Необходимо отметить, что повышение концентрации сурфактина в пределах биосовместимых не оказывает протекторного действия, а усиливает генотоксическое действие диоксидина» выглядит несогласованной.

3. Родовое название *Escherichia* встретилось в работе 10 раз, следовало бы после первого раза сокращать его до *E.*

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней. Диссертационная работа Емельянцева С.А. «Влияние фуллерена C₆₀ на экспрессию генов *Escherichia coli*, ассоциированных с окислительным стрессом» является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. Полученные результаты подтверждены статистически и имеют практическую ценность, сделанные выводы и сформулированные положения научно обоснованы. Структура, содержание и оформление диссертации соответствуют требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011, предъявляемым к диссертационным исследованиям ВАК РФ и паспорту специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Таким образом, диссертация Емельянцева Сергея Александровича «Влияние фуллерена C₆₀ на экспрессию генов *Escherichia coli*, ассоциированных с окислительным стрессом» соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней в ЮФУ» (№66-ОД от 29.03.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки), предъявляемым к диссертациям на соискание

ученой степени кандидата наук, а ее автор **Емельянец Сергей Александрович** заслуживает присвоения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

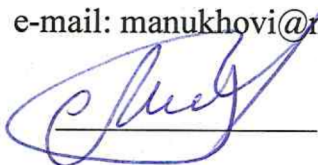
Официальный оппонент

доктор биологических наук по специальности 03.02.07 Генетика,
главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики
Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего
образования «Московский физико-технический институт (национальный
исследовательский университет)

Адрес: 117303, г. Москва, ул. Керченская, д. 1А, корп. 1

Тел.: +7(905)562-29-24; +7 (495) 408-45-54

e-mail: manukhovi@mail.ru



Манухов Илья Владимирович

«10» октября 2025 г.

Подпись доктора биологических наук, главного научного сотрудника,
заведующего лабораторией молекулярной генетики Манухова Ильи
Владимировича удостоверяю:
Учёный секретарь МФТИ



Евсеев Евгений Григорьевич