

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Плюта Владимира Александровича «Особенности образования биопленок и quorum sensing регуляция при действии антибактериальных агентов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология.

Подходы к изучению роли микроорганизмов в структурированные микробных сообществах (биопленках), которые являются широко распространенной (если не исключительной) формой существования микроорганизмов в природных и антропогенных системах, часто ограничиваются применением молекулярных методов детекции микроорганизмов и позволяют судить лишь о потенциальных возможностях микробиома в природных экотопах. В задачу диссертанта входило экспериментальное изучение генетико-биохимическими методами влияния растительных фенолов, фитогормонов, летучих органических соединений, образуемых почвенными бактериями, а также окислителей на закономерности формирования моновидовых бактериальных биопленок.

Актуальность исследований, проведенных В.А. Плюта состоит, прежде всего, в экспериментальных доказательствах принципиальных различий в чувствительности к антибактериальным агентам планктонной и биопленочной форм существования бактерий, причем не только условно-патогенных, клинических штаммов (*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cenocepacia*), но и фитопатогенных (*Agrobacterium tumefaciens*). Механизмы этой устойчивости во многом остаются неизвестными. В результате возникают серьезные проблемы как в медицине, где до сих пор не существует эффективных методов борьбы с обрастанием имплантатов и нежелательным формированием микробных биопленок, вызывающих тяжелые заболевания, так и в технологических процессах, где сообщества микроорганизмов в виде биопленок вызывают повреждение магистральных сетей и коррозию оборудования. Поэтому экспериментальное доказательство важной роли глобальной регуляторной системы «quorum sensing» (QS), которая во многом определяет пути формирования биопленок и реакции структурированных популяций на стрессовые воздействия, является важным достижением диссертанта и свидетельствует об актуальности его работы не только в фундаментально-научном аспекте, но и в связи с возможностью практического использования этих результатов.

Структура диссертации. Диссертация В.А. Плюта изложена на 152 страницах и включает 37 рисунков и 6 таблиц. Она состоит из традиционных разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и «Выводы».

Обзор литературы написан на основании анализа и обобщения 336 работ, в том числе 280 работ иностранных авторов. В обзоре литературы освещены главные проблемы, непосредственно связанные с вопросами, подвергнутыми автором экспериментальному исследованию. В нем подробно охарактеризованы процессы формирования биопленок, их структура и функциональное значение, а также роль в медицине и биотехнологии. Затронуты вопросы современных подходов к борьбе с формированием «вредных» биопленок. Завершается обзор характеристикой систем QS и их роли в регуляции метаболизма, в том числе при переходе микроорганизмов к биопленочной форме существования. В целом материалы изложены хорошим литературным языком, хотя, как в этом разделе, так и в других разделах диссертации, автора можно упрекнуть в избыточном увлечении англицизмами.

В разделе «**Материалы и методы**» (в автореферате он назван «Объекты и методы исследования») детально описаны изученные бактерии, методы их культивирования, способы получения биопленок, основные приемы работы с ДНК и плазидами. Эти описания достаточны для оценки их адекватности поставленным задачам и возможности воспроизведения в других лабораториях. Они свидетельствуют о высоком методическом уровне работы, выполненной с использованием современных микробиологических, генетических и молекулярно-биологических подходов.

В разделе «**Результаты**» привлекают внимание данные о действии растительных веществ на формирование биопленок. Это исследование представляет большой интерес, поскольку представители агробактерий являются фитопатогенами, а многие виды псевдомонад представляют собой постоянных обитателей ризосферы растений, выполняющих функции биоконтроля её микробиома. С этой точки зрения чрезвычайно важным является открытое автором диссертации явление стимуляции биопленкообразования растительными фенольными соединениями и фитогормонами. Как удалось доказать диссертанту эти соединения параллельно увеличивают у изучаемых бактерий (*P. aeruginosa*) биосинтез АГЛ, что позволяет связать стимулирующий эффект с функционированием системы QS. Не менее интересны данные, полученные автором при изучении ингибиторного действия на биопленки *A. tumefaciens* летучих органических (а, возможно, и неорганических) веществ, образуемых другими видами бактерий. Данный подход является весьма перспективным для понимания сложных, в том числе конкурентных, взаимоотношений микроорганизмов в природных микробиоценозах.

Принципиально важные результаты получены при изучении действия на формирование биопленок пероксида водорода. В субингибиторных концентрациях этот окислитель вызывал стимуляцию биопленкообразования у *P. aeruginosa* PAO1 и *B.*

cepосерасiа 370. Однако после введения в клетки *P. aeruginosa* PAO1 гетерологического гена N-ацилгомосеринлактоназы AiiA, расщепляющей АГЛ стимуляция формирования биопленок у этого микроорганизма не наблюдалась. Автор приходит к логичному и весьма принципиальному выводу, что эффект стимуляции зависит от функционирования системы QS. Интересно, что в случае *A. tumefaciens* стимулирующий эффект пероксида водорода отсутствовал. Это обстоятельство также может служить косвенным подтверждением ключевой роли QS-системы в феномене стимуляции биопленкообразования, поскольку недавно показано, что QS-регуляция у агробактерий осуществляется путем многопланового взаимодействия двух QS-систем, имеющих разную локализацию в клетках: «классическая» система локализована в Ti-плазмиде, тогда как вторая система, представляющая собой древний аналог QS-системы ризобий, локализована в ином, пока не идентифицированном мобильном генетическом элементе [Wang et al., 2014].

Достоверность и новизна результатов и выводов диссертационной работы. Ценность их для науки и практики. Работа В.А. Плюта выполнена с использованием современных, надежно апробированных микробиологических, биохимических и генетических методов. Полученные результаты статистически достоверны. При детальном изучении влияния на формирование бактериальных биопленок растительных фенольных соединений и фитогормонов, а также окислителей впервые обнаружено стимулирующее их действие при субингибиторных концентрациях. Ранее подобный эффект был известен только для некоторых антибиотиков. Поэтому полученные Плюта В.А. результаты доказывают общебиологический характер этого явления, не ограниченный узким кругом антибактериальных соединений. Эти результаты будут способствовать лучшему пониманию механизмов устойчивости микробных биопленок к различным стрессовым воздействиям, что, несомненно, является важным шагом на пути к разработке методов борьбы с нежелательным биопленкообразованием (в случае хронических инфекций, а также в процессах биообрастания и биокоррозии медицинского и технологического оборудования). С другой стороны, знание механизмов устойчивости может стать ценным инструментом для стимуляции биопленкообразования в случае использования активности биопленок в процессах очистки природных сред от загрязнений (например, в системах водоподготовки). Представления о динамике биопленкообразования необходимы также и для понимания процессов формирования и функционирования микробных и растительных сообществ в природных экотопах.

Замечания и предложения. Хотелось бы поставить перед диссертантом два вопроса. Во-первых, с какой целью сравнение роста планктонных культур и

формирования биопленок в некоторых опытах (рис.19-21) проводили путем вычисления отношения светорассеяния суспензии планктонных клеток к оптической плотности раствора красителя, экстрагируемого из биопленки. Такое сравнение некорректно, поскольку сопоставляются разные физические величины. Во всех этих случаях гораздо более логичным является представление результатов в других относительных единицах, а именно, в % к контролю (без действующего фактора, т.е биоцида), поскольку сами эти контрольные величины в разных опытах заметно варьируют.

Во-вторых, хотя пероксид водорода достаточно устойчив в водных средах (срок хранения аптечного препарата 3% раствора – два года), но он легко разлагается в присутствии каталазы, содержащейся в клетках бактерий. Было ли проведено сравнение действия пероксида водорода на каталазоположительные и каталазоотрицательные штаммы бактерий? Аналогичный вопрос можно поставить и в отношении параквата (более известного у биохимиков под названием метилвиологен). Паракват вызывает окислительный стресс за счет образования супероксидного анион-радикала, однако последний легко разрушается супероксиддисмутазой. Например, штамм дикого типа *Listeria monocytogenes* оказался нечувствительным к 5 мМ параквата (около 1 мг/мл), тогда как рост мутанта, дефектного по супероксиддисмутазе, подавлялся при концентрации параквата в 5 раз меньшей [Suo et al.,2014]. Возможно, отсутствие стимулирующего эффекта данных окислителей обусловлено в некоторых случаях их быстрым ферментативным разрушением.

Можно также посоветовать автору в дальнейшем для экспериментов с высокой вариабельностью и неизвестным законом варьирования использовать непараметрические методы статистики, независимые от особенностей законов варьирования (в частности, вместо средней арифметической величины использовать медиану).

В работе содержатся некоторые досадные опечатки, например, концентрации указаны в мг вместо мкг (стр.89), обозначение при цитировании et all вместо et al. (стр. 72, 73 и др.), но эти недочеты не снижают общего положительного впечатления от диссертации и легко исправимы.

Результаты диссертационной работы В.А. Плюта в достаточной степени освещены в опубликованных автором печатных работах в журналах списка ВАК. Всего опубликовано 5 научных статей, в том числе две статьи в зарубежных изданиях. Материалы диссертации представлены также на 10 общероссийских и международных конференциях. **Автореферат** полностью раскрывает основные положения диссертации и соответствует ее содержанию.

Подводя итог анализа диссертации, можно сделать заключение, что в работе В.А. Плюта получены новые оригинальные данные, представляющие несомненный научный и практический интерес, достоверность которых не вызывает сомнений. Обнаруженное явления стимуляции формирования биопленок под действием растительных метаболитов и окислителей, а также подавление роста биопленок летучими микробными метаболитами имеют приоритетный характер и могут быть использованы для разработки приемов управления формированием биопленок.

Автор диссертации проявил себя самостоятельным и умелым исследователем, владеющим методами, используемыми в современной микробиологии и биотехнологии.

Диссертационная работа В.А. Плюта «Особенности образования биопленок и quorum sensing регуляция при действии антибактериальных агентов» является научно-квалификационной работой, соответствующей критериям, установленным п. 9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. По актуальности, объему проведенных исследований, высокому методическому уровню, оригинальности и приоритетности полученных результатов, научной-практической значимости она полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 - микробиология, а ее автор Владимир Александрович Плюта, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по этим специальностям.

Официальный оппонент:

главный научный сотрудник лаборатории нефтяной микробиологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Российской академии наук,
117312, г. Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 7, корп. 2.
Тел. (499)1357725, факс – (499)1356530.
e-mail: plakunov@inmi.host.ru

доктор биологических наук, профессор
«05.02.2015 г.»

 Плакунов Владимир Константинович



СВЕДЕНИЯ

**об официальном оппоненте по диссертационной работе Плюта Владимира Александровича
«Особенности образования биопленок и quorum sensing регуляция при действии антибактериальных агентов»
по специальностям 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии), 03.02.03 – микробиология**

Фамилия, имя, отчество	Гражданство	Место основной работы, должность	Ученая степень, звание	Шифр специальности	Список основных публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет
Плакунов Владимир Константинович	Российская Федерация	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт микробиологии им.С.Н. Виноградского Российской академии наук, главный научный сотрудник лаборатории нефтяной микробиологии	Доктор биологических наук, профессор	03.02.03 - Микробиология	<p>1. В.К.Плакунов, Ю.А.Николаев. Основы динамической биохимии (монография). 2010.М.:Логос. 213 с.</p> <p>2.В.К.Плакунов, Е.А.Стрелкова, М.В.Журина. Персистенция и адаптивный мутагенез в биопленках (обзор) // Микробиология. 2010. Т. 79. № 4. С.447-458.</p> <p>3.Николаев Ю.А., Борзенков И.А., Калинин М.В., Лойко Н.Г., Тарасов А.Л., Плакунов В.К.,Беляев С.С., Воронина Н.А., Гальченко В.Ф.,Эль-Регистан Г.И. Антимикробные свойства фенольных кислот // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т.46. № 2. С. 172-179.</p> <p>4. Е.А.Стрелкова, М.В.Журина, В.К.Плакунов, С.С.Беляев. Стимуляция антибиотиками процесса формирования бактериальных биопленок // Микробиология. 2012. Т.81. № 2. С. 282-285.</p> <p>5. Е.А. Стрелкова, Н.В. Позднякова, М.В. Журина, В.К. Плакунов, С.С.Беляев. Роль внеклеточного полимерного матрикса в устойчивости бактериальных биопленок к экстремальным факторам среды // Микробиология. 2013. Т. 82. № 2. С. 131-138.</p>

				<p>6. М. В. Журина, Н. А. Кострикина, Е. Ю. Паршина, Е. А. Стрелкова, А. И. Юсипович, Г. В. Максимов, В. К. Плакунов. Визуализация внеклеточного полимерного матрикса биопленок <i>Chromobacterium violaceum</i> с помощью микроскопических методов // Микробиология. Т.82. № 4. С. 502-509.</p> <p>7. Zhurina M. V., Gannesen A. V., Zdrovenko E. L., Plakunov V. K. Composition and functions of the extracellular polymer matrix of bacterial biofilms. Review // Microbiology. 2014. V. 83. No. 6. P. 713–722.</p> <p>8. Mart'yanov S. V., Zhurina M. V., El' Registan G. I., Plakunov V. K. Activation and prevention of formation of bacterial biofilms by azithromycin // Microbiology. 2014. V. 83. No. 6. P. 723–731.</p>
--	--	--	--	--

Главный научный сотрудник лаборатории нефтяной микробиологии
 Федерального государственного бюджетного учреждения науки
 Институт микробиологии им.С.Н. Виноградского Российской академии наук,
 117312, г. Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 7, корп. 2
 Тел. (499)1351021, факс: (499)1356530
 e-mail: plakunov@inmi.host.ru
 доктор биологических наук, профессор



Плакунов Владимир Константинович



СОБСТВЕННОРУЧНАЯ ПОДПИСЬ
 Д-ра биол. наук Плакунов В.К.
 Подтверждается.
 Подпись Плакунов В.К. 05.08.2015

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Плюта Владимира Александровича

«Особенности образования биопленок и Quorum Sensing регуляция при действии антибактериальных агентов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология.

Диссертационная работа Плюта В.А. посвящена чрезвычайно важной теме современной биотехнологии, микробиологии и генетики микроорганизмов - исследованию закономерностей образования бактериальных биопленок при действии соединений различной природы с антибактериальной активностью, синтезируемых растениями и бактериями. В последние годы стало известно, что большинство бактерий в природных условиях существуют в прикрепленном состоянии, в виде сложно организованных биопленок. Генетический контроль образования биопленок изучен недостаточно, известно, что в регуляции их формирования участвует большое количество генов. Существование патогенных бактерий внутри биопленок создает большие проблемы для медицины в связи с тем, что бактерии в биопленках проявляют значительно более высокую устойчивость к действию антибиотиков и других антимикробных агентов, чем свободно плавающие бактерии. В микробиологических производствах бактериальные обрастания мешают нормальному проведению технологических процессов. В связи с вышесказанным изучение действия на биопленки бактерий различных соединений, разработка методов борьбы с биопленками и выяснение закономерностей генетического контроля образования биопленок важны в фундаментальном и прикладном отношении и вызывают большой интерес у специалистов разных профилей.

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Плюта В.А. является частью многолетних исследований, проводимых в лаборатории Хмель И.А. Института молекулярной генетики РАН, по изучению Quorum Sensing (QS) регуляции у различных бактерий и генетического контроля образования биопленок и соответствует научным и прикладным направлениям работ кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Результаты, полученные В.А. Плюта, имеют теоретическую и практическую ценность для микробиологии, биотехнологии и медицины. Диссертантом было впервые показано, что вещества фенольной природы растительного происхождения, а также некоторые фитогормоны в субингибиторных и/или слабо подавляющих рост концентрациях вызывают стимуляцию образования биопленок; в более высоких

концентрациях эти соединения ингибируют формирование биопленок. Большой интерес представляют данные о том, что эта закономерность может быть обусловлена функционированием QS системы регуляции экспрессии генов в этих условиях. Особый интерес вызывают впервые полученные автором данные о действии на образование биопленок и зрелые биопленки агробактерий летучих органических соединений, образуемых бактериями. Результаты диссертационной работы Плюта В.А. открывают новые аспекты взаимодействия бактерий и растений, что важно для понимания взаимоотношений этих биологических организмов в природных экологических нишах, а также для использования полученных данных на практике.

Вышесказанное свидетельствует о несомненной актуальности диссертационной работы Плюта В.А.

Структура диссертации.

Диссертация В.А. Плюта изложена на 152 страницах, она содержит 37 рисунков и 6 таблиц. Диссертация построена традиционно. В ней имеются разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение результатов, Выводы и Список литературы.

Обзор литературы является полезной сводкой сведений по вопросам, связанным с исследованиями автора – биопленкам бактерий и Quorum Sensing регуляции. Знакомство с обзором показывает, что автор хорошо знает литературу по рассматриваемым вопросам, умеет анализировать и обобщать литературные данные. При написании обзора автором было проанализировано 336 литературных источников. Обзор написан четко, хорошим литературным языком, его разделение на подразделы обоснованно.

Раздел ***Материалы и методы*** содержит подробное описание исследуемых автором бактерий, различных способов получения и анализа бактериальных биопленок, определения синтеза N-ацил-гомосеринлактонов (АГЛ, сигнальных молекул Quorum Sensing регуляции), их идентификации с использованием различных биосенсоров, выделения ДНК, ПЦР-амплификации, передачи плазмид с помощью конъюгации. Этот раздел свидетельствует о высоком методическом уровне работы, выполненной с использованием современных микробиологических, генетических и молекулярно-биологических методов.

Результаты

Этот раздел содержит обширный экспериментальный материал, позволивший автору диссертации сделать ряд новых приоритетных заключений. Перечислим наиболее важные из них. Впервые показано, что соединения фенольной природы с различными структурами, синтезируемые растениями (ванилин, эпикатехин, 4-гидроксибензойная,

галловая, феруловая, синаповая, хлорогеновая и коричная кислоты) в низких концентрациях (не подавляющих или слабо подавляющих рост бактерий) стимулируют формирование бактериальных биопленок (на примере *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 и *Agrobacterium tumefaciens* C58). Такая же закономерность и также впервые была обнаружена при действии на клетки других веществ растительного происхождения – фитогормонов (салициловая, индолил-3-уксусная, гиббереллиновая и абсцизовая кислоты). Еще одна очень интересная и существенная находка диссертанта – это обнаружение повышения синтеза N-3-оксо-додеканоил-гомосеринлактона, сигнальной молекулы LasR-LasI QS системы *P. aeruginosa* PAO1, при действии низких концентраций трех изученных в этом отношении фенольных соединений, что свидетельствует о возможной связи между стимуляцией образования биопленок и LasR-LasI QS системой этой бактерии.

Вопрос о роли QS регуляции в феномене стимуляции формирования биопленок был рассмотрен также с использованием иного подхода при действии на клетки бактерий перекиси водорода, которая также в субингибиторных концентрациях стимулировала образование биопленок. Необходимость функционирования QS для этого феномена была доказана при введении в клетки *P. aeruginosa* PAO1 гетерологичного гена *aiiA* (кодирует N-ацил-гомосеринлактоназу, деградирующую АГЛ); стимуляция образования биопленок при действии H₂O₂ клетками штамма, содержащего этот ген в хромосоме, не происходила.

Оригинальные, приоритетные данные были получены диссертантом при изучении действия на образование биопленок и на зрелые, уже сформированные биопленки *A. tumefaciens* летучих органических веществ (ЛОС), образуемых бактериями родов *Pseudomonas* и *Serratia* (почвенных и ризосферных бактерий). Диссертанту удалось показать, что общий пул летучих веществ, образуемых *P. fluorescens* и *P. chlororaphis*, и индивидуальные летучие органические соединения, диметилдисульфид и кетоны, ингибируют образование биопленок *A. tumefaciens* C58 и убивают бактерии в зрелых биопленках. При этом гибель бактерий, обитающих в биопленках, происходила при более высоких концентрациях индивидуальных ЛОС, чем их гибель при образовании биопленок, как и в случае описанного в литературе действия на биопленки антибиотиков; т.е. эти эксперименты подтверждают более высокую резистентность биопленочных бактерий по сравнению со свободно живущими к действию антибактериальных агентов. Полученные данные расширяют наши знания о конкурентных взаимоотношениях бактерий и показывают, что синтез летучих соединений может быть «оружием» бактерий-

антагонистов, в том числе, средством борьбы с фитопатогенными микроорганизмами в природных экологических нишах.

В последней части диссертационной работы Плюта В.А. были проведены эксперименты по изучению действия ЛОС (кетонов) на функционирование QS систем бактерий. С использованием нескольких биосенсоров, специфически реагирующих на определенные АГЛ, автором было показано, что летучие кетоны, образуемые изученными в этом отношении бактериями, способны подавлять экспрессию генов QS ответа. Эти данные являются логичным продолжением результатов, полученных ранее с участием Лаборатории регуляции экспрессии генов ИМГ РАН и показавших, что общий пул ЛОС указанных штаммов и отдельно диметилдисульфид подавляют функционирование QS регуляции. Конечно, хотелось бы, чтобы эта работа была продолжена и эффект кетонов был исследован и на других бактериях, а не только на штаммах *E. coli*, содержащих репортерные плазмиды с клонированными QS генами.

Приведенные выше результаты диссертационной работы Плюта В.А. не исчерпывают всех интересных данных, полученных автором. Экспериментальные данные подробно проанализированы и обсуждены в разделе **Обсуждение результатов**.

Достоверность, новизна и практическая значимость результатов диссертационной работы.

Достоверность и новизна полученных в диссертационной работе Плюта В.А. результатов не вызывают сомнений.

Работа В.А. Плюта выполнена с использованием современных микробиологических и генетических методов, опробованных ранее. Полученные данные статистически достоверны. Выводы диссертационной работы соответствуют полученным экспериментальным результатам. Работа актуальна, результаты, несомненно, приоритетны, что отмечено выше. Результаты, представленные в диссертации, могут найти дальнейшее применение: 1) в фундаментальных исследованиях регуляции и генетического контроля формирования бактериальных биопленок; 2) в разработке методов борьбы с биопленками; 3) в медицине при введении в практику лекарственных препаратов растительного происхождения для антибактериальной терапии; 4) при развитии методов биологической борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных растений с использованием бактерий-антагонистов.

Полученные результаты представлены на международных и российских конференциях. По материалам диссертационной работы опубликованы 16 научных трудов, в том числе 6 статей в рецензированных научных изданиях, рекомендованных

ВАК РФ. Автореферат полностью раскрывает основные положения диссертации и соответствует ее содержанию.

Замечания и предложения.

Диссертационная работа Плюта В.А. не вызывает серьезных критических замечаний по существу своего содержания. Ниже высказанные замечания носят частный характер и ни в коей мере не снижают положительную оценку работы.

Изученные автором особенности действия ЛОС на биопленки бактерий представляют большой интерес. В связи с этим было бы целесообразно рекомендовать автору проверить эти эффекты на более широком диапазоне бактерий, в том числе, фитопатогенных.

Автор показал, что низкие концентрации фенольных соединений стимулировали синтез АГЛ у *P. aeruginosa* PAO1. Представляло бы также интерес исследовать действие фитогормонов и перекиси водорода на синтез АГЛ и разные виды миграции клеток тестируемых бактерий.

В диссертации имеются опечатки. Качество фотографии (рис. 18) оставляет желать лучшего.

Оценивая работу в целом, можно сделать заключение, что диссертационная работа Плюта В.А. заслуживает высокой оценки. Она является серьезным, глубоким исследованием, выполненным на современном уровне. Диссертация содержит новую важную информацию о закономерностях образования бактериальных биопленок и роли QS систем в феномене стимуляции формирования биопленок при действии низких концентраций антибактериальных агентов. Содержащиеся в диссертации сведения и заключения, несомненно, интересны и полезны для исследователей, работающих в области микробиологии и генетики микроорганизмов, а также в различных областях биотехнологии.

Таким образом, диссертационная работа В.А. Плюта «Особенности образования биопленок и Quorum Sensing регуляция при действии антибактериальных агентов» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи изучения фундаментальных и прикладных аспектов образования микробных биопленок, конкурентных отношений между микроорганизмами и взаимоотношений бактерий и растений, имеющих значение для разработки новых подходов в борьбе с нежелательными микробными биопленками в медицине, промышленности и сельском хозяйстве, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее

автор - Плюта Владимир Александрович, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология.

Официальный оппонент:
Ведущий научный сотрудник лаборатории генетики бактерий
Федерального государственного унитарного предприятия
"Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции
промышленных микроорганизмов",
117545, г. Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1.
Тел. 8 (905) 562-29-24
e-mail: manukhov@genetika.ru
доктор биологических наук

Манухов Илья Владимирович

11 февраля 2015 г.

Подпись руки И.В. Манухова заверяю
Ученый секретарь диссертационного совета «ГосНИИГенетика»
к.х.н., доцент



Т.Л. Воюшина

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте по диссертационной работе Плюта Владимира Александровича
«Особенности образования биопленок и Quorum Sensing регуляция при действии антибактериальных агентов»
по специальностям 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнология), 03.02.03 – микробиология

Фамилия, имя, отчество	Гражданство	Место основной работы, должность	Ученая степень, звание	Шифр специальности	Список основных публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет
Манухов Илья Владимирович	Российская Федерация	Федеральное государственное унитарное предприятие "Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов", ведущий научный сотрудник лаборатории генетики бактерий	Доктор биологических наук	03.02.07 - Генетика	<p>1. Мелькина О.Е., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. С - домен LuxR, активатора транскрипции <i>lux</i>-оперона <i>Vibrio fischeri</i>, не является мишенью для Lon-протеазы // Молекулярная биология. 2010. Т. 44. № 3. С. 1-5.</p> <p>2. Мелькина О.Е., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Протосолитический контроль экспрессии генов <i>lux</i>-оперона <i>Vibrio fischeri</i> в клетках <i>Escherichia coli</i> // Генетика. 2010. Т. 46. № 8. С. 1-6.</p> <p>3. Завильгельский Г.Б., Манухов И.В., Котова В.Ю. Использование специфических индуцируемых <i>lux</i>-биосенсоров для определения механизма токсичности наночастиц // Нанотехника 2010. № 4(24). С. 86-89.</p> <p>4. Manukhov I.V., Khrul'nova S.A., Baranova A., Zavgalsky G.B. Comparative analysis of the <i>lux</i> operons in <i>Aliivibrio lojei</i> KCh1 (Kamchatka isolate) and <i>Aliivibrio salmonicida</i> // Journal of Bacteriology. 2011. V. 193(15). P. 3998-4001.</p> <p>5. Завильгельский Г.Б., Котова В.Ю., Манухов И.В. Наночастицы диоксида титана (TiO₂) индуцируют в бактериях стрессовые реакции, фиксируемые специфическими <i>lux</i>-биосенсорами // Российские Нанотехнологии. 2011. Т. 6. №5-6. С. 130-133.</p> <p>6. Мелькина О.Е., Горянин И.И., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Триггер фактор-зависимый</p>

