ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ МИКРООРГАНИЗМОВ им. Г.К. Скрябина Российской академии наук (ИБФМ РАН)

142290, Московская обл., г. Пущино, просп. Науки, д. 5 Тел./факс: (495) 956-33-70, тел. (495) 625-74-48, E-mail: <u>boronin@ibpm.pushchino.ru</u>, <u>http://www.ibpm.ru</u> ИНН/КПП 5039000146/503901001, ОГРН 1025007771491

УТВЕРЖДАЮ:

Директор

Федерального

государственного

бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии

наук чл.-кор. РАН А.М. Боронин

(4) ucsq 2017.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук (ИБФМ РАН)

Диссертация Тарасова Сергея Евгеньевича «Свойства биосенсоров и микробных топливных элементов при исследовании методом импедансной спектроскопии» выполнена в лаборатории биосенсоров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина Российской академии наук, Федеральное агентство научных организаций.

Тарасов С.Е. в 2013 г. окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тульский государственный университет» с присуждением квалификации «химик» по специальности «Химия».

Тарасов С.Е. в 2013 г. поступил в аспирантуру ИБФМ РАН по направлению 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии). В период с 2013 по 2017 гг. обучался в аспирантуре ИБФМ РАН и работал в должности лаборанта. Он успешно сдал следующие кандидатские экзамены: «История и философия науки», «Иностранный язык (английский)», «Биотехнология».

Научный руководитель – профессор, доктор химических наук Решетилов Анатолий Николаевич, заведующий лабораторией биосенсоров Федерального

государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина Российской академии наук.

По результатам рассмотрения диссертации «Свойства биосенсоров и микробных топливных элементов при исследовании методом импедансной спектроскопии» **принято следующее заключение:**

Актуальность темы диссертационной работы Тарасова С.Е. обусловлена важностью всестороннего изучения особенностей работы аналитических и энергетических устройств на основе биоматериалов для развития данного направления биотехнологии.

Диссертационная работа Тарасова С.Е. является законченным научным исследованием, научно-квалификационной работой, в которой изложены результаты, имеющие существенное значение для биотехнологии и содержащие новые данные об особенностях работы биосенсоров и биотопливных элементов (БТЭ), а также об их перспективном практическом применении.

Личное участие соискателя в получении результатов заключается в непосредственном проведении экспериментов по изучению биосенсоров и биотопливных элементов на основе клеток микроорганизмов и их компонентов с использованием методов хроноамперометрии, хронопотенциометрии, циклической вольтамперометрии и электрохимической импедансной спектроскопии, а также обработке и интерпретации полученных результатов и подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Достоверность результатов исследований, проведенных соискателем, подтверждается применением в работе современных методов исследований, компьютерных программ для обработки данных и использованием сертифицированного оборудования для измерений.

Новизна проведенных исследований обусловлена тем, что впервые разработаны ферментные и микробные импедансометрические биосенсоры для определения глюкозы и этанола на базе печатных графитовых электродов. Впервые для одного штамма микроорганизмов — бактерий *Gluconobacter oxydans* - проведено масштабное исследование влияния свойств нанокомпозита «углеродный материал — бактерии — наноматериал — гель-матрица» на электрохимические свойства биоанодов микробного БТЭ. Выполнена оценка эффективности применения метода импедансной спектроскопии для описания процессов разрушения клеток под действием антибактериального препарата лизоамидазы и электропорации клеточных мембран дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Впервые использован метод конвертерного накопления электричества от маломощных микробных БТЭ и показано влияние модификации поверхности анодов углеродными нанотрубками на уменьшение времени заряда накопителя. Впервые описан способ получения электроэнергии с помощью БТЭ, имплантированного в организм

живого земноводного (на примере травяной лягушки *Rana temporaria*) за счет эндогенного субстрата.

Практическая значимость полученных результатов обусловлена тем, что предложены новые варианты импедансометрических биосенсоров на основе ферментов и целых микробных клеток для определения глюкозы и этанола. Разработана методика введения наноматериалов в полимерные гели на поверхности биоэлектрода, что позволило увеличить мощность микробных БТЭ на 40 % при использовании функционализированных углеродных нанотрубок и оксида графена по сравнению с элементами, использующими стандартные графитовые электроды. Исследование свойств углеродных высокодисперсных материалов на основе полиакрилонитрила показало возможность использования данного класса материалов для создания механически гибких электродов с управляемыми параметрами для микробных биосенсоров и БТЭ. Разработана модельная система для оценки конвертерного накопления электроэнергии от микробных топливных элементов, которая может быть применена в практическом внедрении технологий повышения напряжений постоянного тока от устройств малой мощности типа БТЭ. Работа по встраиванию микробного БТЭ в организм травяной лягушки является основой для дальнейших исследований имплантируемых БТЭ, топливом для которых служат эндогенные субстраты.

Ценность научных работ соискателя состоит в том, что в них решены задачи, связанные с использованием метода импедансной спектроскопии при изучении биоэлектрохимических систем, расширяющие представления о биосенсорах и микробных биотопливных элементах, а также перспективах их практического применения.

Диссертационная работа Тарасова С.Е. соответствует специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Основные материалы диссертации полностью опубликованы в работах соискателя: в шести статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК, в семнадцати тезисах конференций, в том числе с международным участием, а также в одном патенте.

Список публикаций автора по теме диссертационной работы:

Статьи:

1. **Тарасов С.Е.**, Емец В.В., Гуторов М.А., Решетилов А.Н. Импедансная спектроскопия в современных электрохимических ДНК-биосенсорах // Вестник биотехнологии. — 2014. - T.10. - N = 3. - C. 43-49.

- 2. Решетилов А.Н., Плеханова Ю.В, **Тарасов С.Е.**, Китова А.Е., Колесов В.В., Утешев В.К., Василов Р.Г. Живая батарея микробный биотопливный элемент, функционирующий в организме травяной лягушки *Rana temporaria* // Вестник биотехнологии. 2015. Т.11. №2. С. 5-10.
- 3. Решетилов А.Н., Китова А.Е., Мачулин М.В., **Тарасов С.Е.**, Гуторов М.А., Алферов С.В., Колесов В.В., Готовцев П.М., Василов Р.Г. Биосенсор на основе клеток Gluconobacter и терморасширенного графита // Сенсорные системы. − 2016. − Т.30. − №4. − С. 351-354.
- 4. Решетилов А.Н., Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Арляпов В.А., Колесов В.В., Гуторов М.А., Готовцев П.М., Василов Р.Г. Влияние некоторых углеродных наноматериалов на окисление этилового спирта бактериальными клетками *Gluconobacter oxydans* // Прикладная биохимия и микробиология. − 2017. − Т.53. − №1. − С. 1-8.
- 5. Решетилов А.Н., Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Быков А.Г., Гуторов М.А., Алферов С.В., Тенчурин Т.Х., Чвалун С. Н., Орехов А. С., Шепелев А.Д. Готовцев П.М., Василов Р.Г. Оценка свойств биоэлектродов на основе углеродных высокодисперсных материалов, содержащих модельные микроорганизмы *Gluconobacter* // Российские нанотехнологии. 2017. Т.12. №1-2. С. 83-89.
- 6. **Тарасов С.Е.**, Плеханова Ю.В., Решетилов А.Н. Применение импедансной спектроскопии для исследования характеристик биосенсоров и биотопливных элементов. // Вестник биотехнологии. 2017. Т.13. №1. С. 63-71.

Патент:

1. Решетилов А.Н., Плеханова Ю.В., Тарасов С.Е., Китова А.Н., Утешев В.К., Василов Р.Г., Колесов В.В. Способ получения электрической энергии с помощью микробного биотопливного элемента, имплантированного в организм живой травяной лягушки Rana temporaria // Патент № 2599421. Зарегистрирован 15.09.2016. Заявка № 2016106824 от 25.02.2016.

Тезисы:

- 1. Плеханова Ю.В., Решетилов А.Н., **Тарасов С.Е.**, Китова А.Е. Имплантированный биотопливный элемент на основе клеток *Gluconobacter oxydans* // XII Международная научная конференция «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии» с элементами научной молодежной сессии. 4-7 июля 2016 г. Владимир Суздаль. Труды, книга II. С. 105-109.
- 2. Китова А.Е., Быков А.Н., **Тарасов С.Е.**, Колесов В.В., Ярополов А.И., Решетилов А.Н. Анод микробного биотопливного элемента на основе терморасширенного графита и мембранных фракций бактериальных клеток *Gluconobacter oxydans* // Труды Международной дистанционной научной конференции «Современная наука: актуальные проблемы и пути их решения» г. Липецк 20-21 февраля 2014г. (Под ред.

- М.Ю. Левина Липецк: ООО «Максимал информационные технологии) 2014. № 7. С. 12-15. ISSN 2307-8782.
- 3. **Тарасов С.Е.**, Решетилов А.Н. Сенсорное определение глюкозы методом электрохимической импедансной спектроскопии // Первая Пущинская школаконференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». Сб. Пущино. 11-12 декабря 2014г. Материалы конференции. Пущино: ИБФМ РАН. С. 16-20.
- 4. **Тарасов С.Е.**, Плеханова Ю.В., Быков А.Г., Китова А.Е., Ивахненко А.А., Решетилов А.Н. Конвертерное накопление напряженности от биотопливного элемента на основе клеток *Gluconobacter oxydans* // II Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». 7-11- декабря 2015. Материалы конференции. Пущино: ИБФМ РАН. С. 138-140.
- 5. Плеханова Ю.В., Китова А.Е, **Тарасов С.Е.**, Быков А.Г., Решетилов А.Н. Безмедиаторное биоэлектрокаталитическое окисление этилового спирта на электроде изтерморасширенного графита, модифицированного клетками *Gluconobacter oxydans* и их мембранными фракциями // II Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». 7-11- декабря 2015. Материалы конференции. Пущино: ИБФМ РАН. С. 140 –142.
- 6. Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Китова А.Е, Решетилов А.Н. Сравнение характеристик биоанодов в биотопливном элементе при модификации их углеродными наноматериалами // II Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». 7-11 декабря 2015. Материалы конференции. Пущино: ИБФМ РАН. С.142 144.
- 7. Решетилов А.Н, Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Китова А.Е., Быков А.Г., Колесов В.В., Гуторов М.А. Изменение активности бактериальных клеток Gluconobacter oxydans в биотопливном элементе при модификации биоанодов углеродными наноматериалами. // Материалы II Всероссийского семинара памяти профессора Ю.П. Волкова «Современные проблемы биофизики, генетики, электроники и приборостроения». Саратов 2015 г.16-18 декабря. 2015. С.105-109
- 8. Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Быков А.Г., Решетилов А.Н. Использование углеродных наноматериалов для модификации анодов биотопливных элементов // Международная научно-техническая конференция «Системы контроля окружающей среды 2016»; Севастополь. 24—27 октября 2016 г. Севастополь: ИПТС, 2016. 234 с. Тезисы докладов С. 208.
- 9. **Тарасов С.Е.** Определение глюкозы методом электрохимической импедансной спектроскопии// Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2014» Тула. 2-3 октября 2014 г. Материалы конференции. Тула: Изд-во ТулГУ. С. 26.
- 10. Тарасов С.Е., Плеханова Ю.В., Решетилов А.Н. Оценка параметров модифицированных электродов микробных биотопливных элементов с помощью

- импедансной спектроскопии // Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2016» Тула. 11-12 октября 2016 г. Материалы конференции. Тула: ТулГУ. С. 112.
- 11. Пташник И.В., Китова А.Е., Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Решетилов А.Н. Сравнение безмедиаторного и медиаторного окисления некоторых субстратов бактерий Gluconobacter oxydans, иммобилизованными на спектральном графитовом электроде // Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2016». 11-12 октября 2016 г. Материалы конференции. Тула: ТулГУ. С. 97.
- 12. Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Решетилов А.Н. Выбор проводящего биополимера для микробного биотопливного элемента на основе клеток *Gluconobacter oxydans* // III Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». 5-9 декабря 2016. Материалы конференции. М.: ООО ИД «Вода: химия и экология». С. 156 –157.
- 13. Китова А.Е., **Тарасов С.Е.**, Решетилов А.Н. Модификация печатных электродов терморасширенным графитом // III Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». 5-9 декабря 2016. Материалы конференции. М.: ООО ИД «Вода: химия и экология». С. 160 –161.
- 14. **Тарасов С.Е.**, Плеханова Ю.В., Пташник И.В., Быков А.Г., Решетилов А.Н. Особенности безмедиаторного переноса электронов клетками и мембранными фракциями бактерий *Gluconobacter oxydans* // III Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». 5-9 декабря 2016. Материалы конференции. М.: ООО ИД «Вода: химия и экология». С. 162–163.
- 15. **Тарасов С.Е.**, Плеханова Ю.В., Решетилов А.Н. Углеродные волокнистые материалы как основа биоанодов микробных биотопливных элементов // Сборник статей по материалам научно-практической конференция с международным участием «Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность 2017»; Севастополь. 11–15 сентября 2017 г. Севастополь: СевГУ, 2017. 1617 с. Тезисы докладов. С. 1318 –1320.
- 16. Плеханова Ю.В., **Тарасов С.Е.**, Быков А.Е., Решетилов А.Н. Влияние некоторых углеродных наноматериалов на свойства анода микробного биотопливного элемента // Материалы 1-го Российского микробиологического конгресса. Пущино, 17-18 октября 2017 г. М.: ООО ИД «Вода: химия и экология». С. 166.
- 17. **Тарасов С.Е.**, Плеханова Ю.В., Быков А.Г., Решетилов А.Н. Взаимодействие бактериальных клеток с наноматериалами. // Тезисы докладов Третьего съезда аналитиков России. 8-13 октября 2017 г., г. Москва; М: ГЕОХИ РАН, 2017. С. 474.

Диссертация «Свойства биосенсоров и микробных топливных элементов при исследовании методом импедансной спектроскопии» Тарасова Сергея Евгеньевича рассмотрена на заседании совместного семинара лабораторий биосенсоров, биохимии клеточной поверхности микроорганизмов, биологии плазмид, регуляции биохимических

процессов и микробиологической трансформации органических соединений ИБФМ РАН 1 ноября 2017 года и рекомендована к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Зав. лабораторией регуляции биохимических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук,

д.б.н.

Кулаковская Татьяна Валентиновна

Ведущий научный сотрудник лаборатории биологии плазмид государственного Федерального бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской

KAHUENAPIA

академии наук, д. б.н.

Филонов Андрей Евгеньевич

yeans lenos

Миститут бисхиням и сызменогии микроорганизмов Умм. Г.К. Скрябина Роспийской академии наук

кой академии наук