ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертацию на соискание ученой степени
доктора физико-математических наук Летуты Ульяны Григорьевны
на тему: «Магнитно-изотопные эффекты в бактериях *E. coli*»
по специальности 1.5.2. - «Биофизика» (03.01.02 – «Биофизика»)

Диссертационная работа Летуты У.Г. представляет собой законченное исследование, посвященное поиску магнитно-изотопных эффектов в живых организмах на примере бактерий *E. coli*. Предметом исследования являются магнитные эффекты изотопов магния и цинка и внешних постоянных магнитных полей. Таким образом, по предмету исследования, кругу решаемых научных задач, применяемым методическим подходам диссертация Ульяны Григорьевны соответствует специальности 1.5.2. - «Биофизика» (03.01.02 – «Биофизика») по физико-математическим наукам.

Актуальность избранной темы

Магнитно-изотопные эффекты в химических реакциях известны уже около полувека и рост публикаций стал значителен с середины 90-х годов 20 века. Эти открытия вызывают много вопросов о молекулярных и электронных механизмах магнитно-изотопного влияния на ферментативные процессы. Важным становится и вопрос о влиянии магнитных изотопов на внутриклеточные процессы на модели живых организмов. В диссертационной работе Летуты У.Г. экспериментально показана способность живых организмов «чувствовать» наличие ядерного магнитного момента у изотопов химических элементов. Предлагается модель способная качественно объяснить влияние внешних слабых постоянных магнитных полей на живые организмы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Результаты, полученные в диссертации и отраженные в выносимых на защиту положениях, являются оригинальными. Сделанные выводы вытекают из

основного содержания диссертации, аргументированы и соответствуют цели и задачам работы. Автореферат полностью отражает содержательные моменты диссертационной работы.

По материалам диссертации опубликовано 19 статей в рецензируемых профильных научных изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus. Результаты многократно докладывались на международных и всероссийских конференциях, а также научных семинарах.

Достоверность и новизна результатов, изложенных в диссертации

Автором обнаружены эффекты магнитного изотопа магния и цинка в росте бактерий. Достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений и выводов диссертации обеспечена использованием современных и стандартных методов исследования и анализа полученных данных. Надёжность полученных эффектов подтверждается проведением необходимых контрольных экспериментов.

Полученные Летутой У.Г. в диссертационной работе результаты, несомненно, обладают научной новизной и свидетельствуют о чувствительности бактериальных клеток к наличию магнитного момента у ядра и изотопа магния. Прикладной интерес может представлять и метод внутриклеточного магний-изотопного обогащения бактерий, который запатентован диссертантом. В диссертации описаны оригинальные результаты изменения внутриклеточного элементного состава в зависимости от внешнего постоянного магнитного поля и содержащегося в питательной среде изотопа магния или цинка. Магнитно-изотопные эффекты магния в резистентности бактерий к некоторым антибиотикам затрагивают важную междисциплинарную задачу борьбы с «супербактериями», обладающими повышенной резистентностью.

Обнаружен эффект внешнего постоянного магнитного поля и магнитных изотопов магния и цинка на рост бактерий *E. coli*. Полученные в диссертационной работе результаты говорят о том, что с помощью магнитных взаимодействий возможно управлять биологическими процессами на модели *in vivo*. Научная значимость полученных в работе результатов не вызывает сомнения, как и их

новизна. Летута У.Г. представила совершенно новые результаты о влиянии магнитных изотопов и магнитных полей на бактерии *E. coli*, а также представила теоретическую модель такого влияния.

Основное содержание диссертации

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения и основных результатов, и выводов. Работа изложена на 239 страницах, включает 107 рисунков и 9 таблиц.

Во введении обоснованы актуальность работы, обозначена новизна, сформулирована цель исследования, определены задачи, объект и предмет исследования, теоретическая и практическая значимость работы, кратко изложена методология работы, выносимые на защиту положения, личный вклад автора, публикации и презентации на конференциях.

В первой главе описываются обнаруженные магнитно-изотопные эффекты магния в росте и развитии бактерий *E. coli*. В частности, получено, что внутриклеточное обогащение клеток магнитным изотопом магния ^{25}Mg стимулирует рост, сокращает фазу адаптации, увеличивает количество колониеобразующих единиц при достижении стационарной фазы. В работе приведён анализ примесного содержания питательных сред, что очень важно, так как даже небольшие количества парамагнитных ионов могут «разрушить» магнитно-изотопное влияние магния на внутриклеточные процессы. Отсутствие значимых различий в ростовых показателях бактерий на среде с немагнитными изотопами свидетельствуют о магнитной природе обнаруженных в первой главе эффектов.

Во второй главе описаны результаты экспериментальной работы по поиску магнитно-изотопных эффектов магния в резистентности бактерий к 16 антибиотикам восьми различных групп. Установлено совместное влияние изотопов магния и антибиотиков на внутриклеточные системы – мишени действия антибактериальных препаратов. Показано, что магнитный изотоп магния влияет на резистентность бактерий к антибиотикам групп аминогликозидов, линкозамидов, хинолонов/фторхинолонов и ансамицинов, что может свидетельствовать о

магнитной чувствительности внутриклеточных систем, ответственных за синтез белка (аминогликозиды, линкозамиды), ДНК (хинолоны/фторхинолоны) и РНК (ансамицины).

В третьей главе описываются результаты совместного влияния изотопов магния и внешних постоянных магнитных полей на бактерии *E. coli*. Получено, что слабые магнитные поля 0,8-10 мТл стимулируют рост бактерий, их колониеобразующую способность независимо от изотопа магния в питательной среде. При этом обнаруженные совместные эффекты магнитного поля и магнитного изотопа магния ^{25}Mg в диапазоне 76–85 мТл в колониеобразующей способности бактерий и содержании некоторых элементов (S, Mg, P) говорят о наличии магниточувствительных стадий внутриклеточных процессов, на которые можно влиять и с помощью магнитных изотопов химических элементов, и с помощью внешних постоянных магнитных полей.

В четвёртой главе описаны магнитно-полевые и магнитно-изотопные эффекты цинка, второго по значимости после магния структурного компонента многих ферментов. Цель данной главы состояла в поиске экспериментальных доказательств чувствительности бактерий *E. coli* к магнитным ядерным моментам изотопа цинка ^{67}Zn . Было обнаружено 2-4-кратное увеличение колониеобразующей способности и констант скорости роста бактерий *E. coli*, растущих на питательной среде с магнитным изотопом цинка ^{67}Zn в магнитных полях 25-35 мТл по сравнению с немагнитными изотопами $^{64,66}\text{Zn}$.

В пятой главе проведена работа по исследованию магнитно-полевого и магнитно-изотопного влияния на внутриклеточное содержание АТФ в бактериях *E. coli*. Было показано, что содержание АТФ зависит от напряженности внешнего постоянного магнитного поля и наличия ядерного магнитного момента у изотопа магния или цинка, содержащегося в питательной среде. Максимальная концентрация АТФ была зарегистрирована при культивировании бактерий на среде с магнитным изотопом магния ^{25}Mg в диапазоне 70-90 мТл, что говорит об усилении магнитно-изотопного эффекта внешним магнитным полем. Эти

результаты служат косвенным подтверждением магнитной чувствительности стадий ферментативного синтеза АТФ.

В шестой главе диссертант приводит описание возможных физико-химических механизмов магнитно-полевого влияния на живые организмы, которые способны хотя бы качественно объяснить обнаруженные в диссертационной работе магнитно-изотопные и магнитно-полевые эффекты в бактериях *E. coli*. Единственный механизм, который подходит для этого – радикально-парный механизм. На основе простой модели ферментативной магниточувствительности, которая была построена на основе ион-радикального механизма ферментативной реакции синтеза АТФ с участием магнитного изотопа магния, была записана и решена система уравнений, характеризующих изменения частиц на различных стадиях ферментативной реакции. Для решения этой системы использовался формализм спиновых матриц плотности и квазистационарное приближение. Было показано, что сверхтонкое взаимодействие ядерного магнитного момента изотопа с неспаренным электронным спином в ион-радикальной паре приводит к спиновой эволюции пары и включает дополнительные реакционные каналы, что повышает, как следствие, выход продукта реакции. Приведена теоретическая магнитно-полевая зависимость констант скоростей ферментативной реакции, которая качественно совпадает с экспериментальными магнитно-полевыми зависимостями концентрации АТФ и колониеобразующей способности бактерий *E. coli*, растущих на среде с магнитным изотопом цинка или магния. Согласно концепции автора диссертации – ферментативные реакции, сопровождающиеся образованием ион-радикальных пар с участием магнитных изотопов, могут быть магниточувствительными стадиями биологических внутриклеточных процессов.

Диссертационную работу завершает общее заключение и основные результаты и выводы, которые полностью соответствуют поставленным целям и задачам и, как уже было отмечено, обладают существенной научной новизной и практической значимостью.

В целом, работа очень хорошо оформлена, написана чётким и ясным языком. Изложение экспериментальных результатов выстроено в логической последовательности, все обсуждаемые положения и выводы хорошо проиллюстрированы рисунками и таблицами. Автореферат диссертации полностью отражает суть работы, её результаты и основные положения, которые автор выносит на защиту. Материалы диссертации адекватно отражены в публикациях автора и в его выступлениях на российских и международных научных конференциях.

Оценивая диссертацию в целом, следует отметить оригинальность поставленных научных задач, широкое применение традиционных и оригинальных методов, а также ценность огромного количества полученных экспериментальных результатов.

Замечания по диссертационной работе

Некоторые вопросы по тексту и комментарии сформулированы ниже.

1. Текст не лишен опечаток, что вполне объяснимо большим объемом работы и компьютерной версткой текста. Например, на стр.28 1-й абзац «в росте бактерий при росте на питательных средах»; на стр. 165 3-ая строка «описанные эксперименты, описанные были выполнены».

2. Во второй главе отсутствует единый стиль оформления диаграмм размеров бактерий, полученных с помощью атомно-силовой микроскопии, что затрудняет анализ представленных данных.

3. Во второй главе отсутствует детальное описание возможных физико-химических механизмов совместных эффектов антибиотиков и изотопов магния на резистентность бактерий. Диссертант, в основном, сосредоточена на магнитно-изотопных эффектах, хотя резистентность бактерий отличается и для контрольной группы (таблица 2.2), например, для тетрациклина, имипенема и цефтриаксона.

4. Некоторые из рисунков трудночитаемы, например, рисунки 1.4, 3.6, 3.7, 4.6.

5. При анализе магнитно-полевых зависимостей внутриклеточного содержания АТФ бактериях *E. coli* возник вопрос: почему максимальные показатели в слабых полях различаются для разных изотопов магния, не только для магнитного? С чем это может быть связано?

6. Не хватает более детального обсуждения не только обнаруженных магнитно-изотопных эффектов, но также и различий в резистентности бактерий контрольной группы, растущей на природном магнии (например, в случае действия тетрациклина и имипенема (таблица 2.2).

7. Основное замечание относится к шестой главе. Приведенная модель предполагает образование одновалентного магния. Если и образуется такое состояние магния, то время жизни его очень мало (менее 0,1 фс) намного порядков меньше времени необходимого для синглет-триплетных (запрещенных по спине) переходов. За это время магнитное поле не успеет повлиять на короткоживущую ион-радикальную пару с магнием.

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Общее впечатление о диссертационной работе положительное. Считаю, что поставленные в диссертации задачи решены, цель диссертационной работы достигнута.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.2. - «Биофизика» (Физико-математические науки) ((03.01.02 – «Биофизика») (Физико-математические науки)), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Летуга Ульяна Григорьевна заслуживает присуждения ученой степени доктора физико-математических наук по

специальности 1.5.2. - «Биофизика» (Физико-математические науки) ((03.01.02 – «Биофизика») (Физико-математические науки)).

Официальный оппонент:

доктор химических наук, профессор,
заведующий лабораторией процессов фотосенсибилизации,
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (ИБХФ РАН)
Кузьмин Владимир Александрович

12 января 2022

Контактные данные:

тел.: 8(495)939-7341, e-mail: vak@sky.chph.ras.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 02.00.04 – физическая химия

Адрес места работы:

119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
(ИБХФ РАН)

тел.: 8(495)939-7341, e-mail: vak@ sky.chph.ras.ru

Подпись сотрудника ИБХФ РАН Кузьмина В.А.

Удостоверяю

Ученый секретарь ИБХФ РАН к.б.н.

Скалацкая С.И.