

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 99.0.027.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ РОССИЙСКОГО ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ТВЕРСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО ТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА МИНИСТЕРСТВА
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ,
ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМЕНИ
Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело

№

решение диссертационного
совета

от «30» мая 2023 года № 7

О присуждении Сидорскому Егору Владимировичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Синтез, свойства и применение в качестве биосовместимых носителей веществ пептидной природы широкопористых криогелей на основе белков сыворотки крови» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите «14» марта 2023 года (протокол заседания № 5) диссертационным советом 99.0.027.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук (125047, Москва, Миусская площадь, 9, приказ о создании диссертационного совета от «28» сентября 2016 года №1172/нк).

Соискатель Сидорский Егор Владимирович, «4» апреля 1994 года рождения. В 2016 году окончил Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева. В 2021 году освоил программу подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук. Работает младшим научным сотрудником в лаборатории криохимии (био)полимеров Института элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории криохимии (био)полимеров Института элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор химических наук Лозинский Владимир Иосифович, профессор, заведующий лабораторией криохимии (био)полимеров

Института элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

- **Варламов Валерий Петрович**, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией инженерии биополимеров Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»;

- **Капустин Дмитрий Валерьевич**, доктор химических наук, старший научный сотрудник лаборатории полимеров для биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук;

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (Москва) в своем *положительном* отзыве, подписанным Кедиком Станиславом Анатольевичем, доктором технических наук, профессором, заведующим кафедрой Биотехнологии и промышленной фармации и Каплуном Александром Петровичем, доктором химических наук, профессором кафедры Биотехнологии и промышленной фармации, указали, что по объему, уровню выполнения, важности и актуальности полученных результатов диссертационная работа «Синтез, свойства и применение в качестве биосовместимых носителей веществ пептидной природы широкопористых криогелей на основе белков сыворотки крови», представленная на официальное оппонирование, полностью удовлетворяет требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в редакции от 26.09.2022), предъявляемым ВАК Министерства науки и высшего образования РФ к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а Сидорский Егор Владимирович – заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология (отзыв рассмотрен и обсужден на заседании кафедры Биотехнологии и промышленной фармации «14» апреля 2023 года, протокол № 9).

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 13 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 8 статей. Общий объем публикаций составляет 80 страниц. ***В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах.*** 13 работ опубликовано с соавторами. Личный вклад в работы, опубликованные в соавторстве, составляет более 75 %, и заключается в участии в постановке целей и задач исследования, построении и проведении экспериментов по синтезу криогелей, получении биорегулятора и изучении его состава, физико-химических свойств и биологического действия, в обобщении, анализе и публикации экспериментальных данных, формулировании выводов диссертационной работы, а также в написании научных статей и выступлении с докладами по теме диссертации на научных конференциях. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 4 международных и всероссийских научных конференциях и форумах; монографий и депонированных рукописей соискатель не имеет.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

Sidorskii E.V. Cryostructuring of Polymeric Systems: 57. Spongy wide-porous cryogels based on the proteins of blood serum: preparation, properties and application as the carriers of peptide bioeffectors / E.V.Sidorskii, M.S.Krasnov, V.P.Yamskova, V.I.Loizinsky // Gels. – 2020. – V. 6. – №. 4 – # 50. (Scopus, Web of Science).

Ilyina A.P. Peptide-protein complex from cattle sclera: Structural aspects and chaperone activity / A.P.Ilyina, E.V.Sidorsky, A.V.Tregubov, V.M.Chekova, P.A.Elistratov, V.P.Yamskova, I.A.Yamakov // Biochemistry and biophysics reports. – 2020. – V. 24. – # 100851. (Scopus, Web of Science).

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов, *все положительные*. В отзывах указывается, что представленная к защите диссертационная работа характеризуется высокой актуальностью, научной ценностью и имеет большое значение для теории и практики биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации.

Отзывы направили:

1. Кусайкин Михаил Игоревич, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории химии ферментов, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук. Замечания:

«Автор указывает, что выделенный белково-пептидный биорегулятор представляет собой комплекс, состоящий из бычьего сывороточного альбумина и пептидов, однако, сведений о количественном содержании компонентов комплекса мне найти не удалось.»

«В результате денатурирующего воздействия на компоненты фракции, полученной при первом разделении с помощью ВЭЖХ отделяются другие ее компоненты со временем удерживания 33 и 34 мин. Приводится масс-спектрометрический анализ фракции со временем удерживания 33 мин, что из себя представляет фракция с временем удерживания 34 мин – не указывается.»

2. Вишневецкий Дмитрий Викторович, кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный университет».

Замечания: «Стр. 14, Рис 9: с каким контрольным образцом идет сравнение экспериментальных результатов?»

3. Кильдеева Наталья Рустэмовна, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии и технологии полимерных материалов и нанокомпозитов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет имени А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)».

Замечания: «В работе проведена оптимизация условий получения криогелей, одним из параметров которой являлся выход геля фракции, однако, в автореферате не приведены данные о том, какие компоненты сыворотки крови не вошли в состав полимерной сетки геля.»

4. Тюмина Елена Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории алканотрофных микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии. Отзыв не содержит замечаний.

5. Цугкиев Борис Георгиевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий кафедрой биотехнологии и стандартизации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет» и Гагиева Лариса Черменовна, доктор биологических наук, доцент той же кафедры. Отзыв без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются признанными специалистами в данной области биотехнологии, что подтверждается наличием соответствующих публикаций в ведущих научных рецензируемых изданиях, а также спецификой и профилем диссертационной работы, и выполнен в соответствии с пп. 22 и 24 «Положения о присуждении научных степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: показано, что при неглубоком замораживании раствора, содержащего сумму белков сыворотки крови, мочевины и цистеин, формируются губчатые криогели, которые могут применяться в качестве носителей белково-пептидных биорегуляторов. Установлено, что выход гель-фракции, степень набухания, а также макропористая морфология полимерной матрицы, зависят от условий процесса криоструктурирования. Найдено, что в состав полимерной сетки криогелей помимо цепей альбумина включаются полипептиды, относящиеся к иммуноглобулинам, трансферринам и глобулинам. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показана возможность использования криогелей на основе суммы белков сыворотки крови в качестве носителя биорегулятора для его доставки к биологической мишени.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что: в результате выполненных исследований получены новые ранее неизвестные биологически активные препараты, представляющие собой губчатый белковый носитель с адсорбированным биорегулятором. Показано, что условия криоструктурирования являются определяющими для таких физико-химических характеристик полученных криогелей, как выход гель-фракции, степень набухания полимерной фазы, а также особенности широкопористой морфологии полимерной матрицы. Установлено, что состав полимерной сетки полученных криогелей, помимо цепей сывороточного альбумина, включаются полипептиды, относящиеся к иммуноглобулинам, трансферринам и глобулинам.

Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждается тем, что: на основе полученных результатов разработана методика синтеза, получены и исследованы новые биотехнологически-важные криогенно-структурированные полимерные носители на основе суммарного белка сыворотки крови. Разработана методика выделения и очистки склерального

пептидо-белкового биорегулятора, а также получены данные о его составе и физико-химических свойствах. Проведенные *in vitro* и *in vivo* испытания таких препаратов показали перспективность подобных систем для решения ряда биомедицинских задач.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;
- достоверность полученных результатов обеспечена использованием современных методов эксперимента, соответствующих современному научному уровню;
- выводы диссертации обоснованы, не вызывают сомнения и согласуются с современными подходами к выбору объектов и методов.

Личный вклад соискателя включает участие в постановке целей и задач исследования, планировании и проведении экспериментов по синтезу криогелей, получении биорегулятора и изучении его состава, физико-химических свойств и биологического действия, в обобщении, анализе и публикации экспериментальных данных, формулировании выводов диссертационной работы, а также в написании научных статей и выступлении с докладами по теме диссертации на научных конференциях.

В ходе защиты диссертации были заданы **следующие вопросы:**

1. Чем обоснован выбор вашего материала (суммарные белки сыворотки)? Белки не самые принятые материалы в тканевой инженерии, в частности, одним из их недостатков является иммуногенность, а особенно когда речь идет о разных группах животных и человека, поэтому существуют другие принятые материалы, тот же поливиниловый спирт.
2. У вас приведены много моделей эксперимента и в подобных системах изучается кинетика выхода. Присутствует ли бустер-эффект в использованных моделях?
3. Вы исследовали процесс гелеобразования при температурах от -15 до -25°C. Оптимальной температурой была -15, а Вы не пробовали повышать температуру? При более высокой температуре увеличение времени процесса гелеобразования не решало это проблему?
4. Как менялась вторичная структура биорегулятора в криогеле?
5. Рассматривали ли вы вопрос стерилизации криогелей?
6. Исследовалась ли стабильность ваших гелей (температура при которых происходит разрушение, срок хранения)?
7. Какой пептид использовался, на чем основывался его выбор?
8. Чем обусловлен выбор биологической модели?
9. Что регулирует биорегулятор? Какую реакцию или какой процесс?

Соискатель Сидорский Е.В. ответил на заданные ему в ходе диссертации вопросы и привел собственную аргументацию.

На первый вопрос автор пояснил, что выбор таких материалов был обусловлен тем, что они в первую очередь должны быть биосовместимы и биоразлагаемы. Достоинством этих материалов является то, что при попадании в организм они распадаются до аминокислот, то есть отсутствие вреда. Еще одним

достоинством является то, что можно получить эти криогели из собственной сыворотки крови человека и тогда не будет иммунного ответа.

На второй вопрос автор ответил, что это было не исследовано. То, что биорегулятор выходит из криогеля, было показано биологическим эффектом.

На третий вопрос автор пояснил, что криогели, полученные при температуре -10 и -5°C часто не получались, из-за того, что реакционная смесь не замораживалась из-за эффектов переохлаждения. Увеличение времени процесса гелеобразования не помогло.

На четвертый вопрос автор ответил, что были отдельно изучены свойства биорегулятора и свойства криогеля, показано их биологическое действие.

На пятый вопрос автор указал, что полученные в работе криогели стерилизовали в этиловом спирте.

На шестой вопрос автор уточнил, что целью данного исследования было продемонстрировать эффективное биологическое действие системы криогель-биорегулятор. Изучались такие характеристики материала как выход геля фракции, степень набухания и какие белки сыворотки встраиваются в полимерную сетку криогелей. Такое исследование запланировано в дальнейшем.

На седьмой вопрос автор пояснил, что набор пептидов был получен из фракции биорегулятора ткани склеры крупного рогатого скота в результате действия на него денатурирующих агентов.

На восьмой вопрос автор ответил, что *in vitro* модель заднего сектора глаза была выбрана для того, чтобы показать эффективное действие биорегулятора в системе «криогель-биорегулятор» на состояние тканей заднего отдела глаза, а модель *in vivo* являлась логичным продолжением серии экспериментов, чтобы показать, как система «криогель-биорегулятор» работает в живом организме.

На девятый вопрос автор обозначил, что биорегуляторы регулируют процессы регенерации в патологически измененных тканях. На клеточном уровне улучшают адгезию, пролиферацию.

На заседании «30» мая 2023 года диссертационный совет за решение научной задачи по разработке подходов к синтезу новых широкопористых криогелей на основе белков сыворотки крови, изучению их физико-химических свойств и микроструктуры, а также исследованию возможностей применения таких криогелей в качестве биосовместимых носителей веществ пептидной природы, имеющей существенное значение для развития биотехнологии и регенеративной медицины, принял решение присудить Сидорскому Егору Владимировичу ученую степень кандидата химических наук.

Диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции). По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по направлениям исследования «3. Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их

применения и «8. Разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценки безопасности использования пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепаратов». Результаты работы могут быть рекомендованы для изучения и внедрения в научных и образовательных организациях, а также в медицинских и фармацевтических организациях, занимающихся вопросами онкотерапии.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 16 докторов наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17(семнадцать), против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета  Виктор Иванович Панфилов

Ученый секретарь диссертационного совета Ирина Васильевна Шакир

