

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу **Сидорского Егора Владимировича**
«СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ
НОСИТЕЛЕЙ ВЕЩЕСТВ ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ ШИРОКОПОРИСТЫХ
КРИОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.5.6. Биотехнология.

В последние годы наблюдается быстрый рост исследований, посвященных синтезу, изучению свойств и применению новых полимерных материалов на основе различных гелевых систем. Среди полимерных гелей особое место занимают так называемые криогели – макропористые гелевые матрицы, которые формируются в неглубоко замороженных системах - в растворах или в коллоидных дисперсиях, а роль порогенов при этом выполняют кристаллы замороженного растворителя. В свою очередь, криогели на основе белков вызывают значительный интерес в виду их использования в качестве материалов биомедицинского назначения. Это объясняется как комплексом ценных свойств, присущих белковым материалам, таким как биосовместимость, нетоксичность, биodeградируемость, так и особыми характеристиками криогелей, получаемых на основе белков, обладающими специфической пористостью с системой взаимосвязанных макропор. Для структуры и свойств любых криогелей крайне важно учитывать влияние на физико-химические параметры и эксплуатационные характеристики материала таких факторов, как природа и концентрация предшественников, а также режимы криотропного гелеобразования. Поэтому для каждого нового вида криогеля необходимо проводить исследования, устанавливающие характер влияния вышеназванных факторов на характеристики и морфологию пор конечных матриц, а также выявлять оптимальные условия для их формирования. Подобные исследования, в частности, посвященные белковым криогелям, несомненно, являются актуальными, и имеют научную и практическую значимость. Кандидатская диссертация Е.В. Сидорского как раз и посвящена созданию и исследованию свойств губчатых криогелей на основе суммы белков сыворотки крови, а также их применимости в качестве носителей веществ белково-пептидной природы, обладающих биорегуляторной активностью. По своей направленности, тематике и методологии исследований эта работа полностью соответствует специальности 1.5.6. «Биотехнология».

Диссертант провел объемное мультидисциплинарное исследование, включающее синтез белковых криогелей и характеристику их свойств; выделение, очистку, изучение физико-химических и биологических свойств биорегулятора из склеральной ткани быка; насыщение криогелевых носителей биорегулятором с последующим тестированием полученных препаратов *in vitro* и *in vivo*. Очевидно, что диссертант овладел широким набором экспериментальных методов, что в итоге позволило ему справиться с задачами диссертационного исследования. Полученные Е.В. Сидорским результаты имеют как научную ценность, так и практическое значение для направлений биотехнологии, связанных с разработкой эффективных средств доставки биологически активных агентов.

Диссертация изложена в традиционной форме и состоит из введения (включающего формальные подразделы, посвященные актуальности, цели работы, научной новизне, практической значимости и т.д.), литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов исследований, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Диссертация объемом в 139 страниц машинописного текста включает 49 рисунков, 5 таблиц; список литературы содержит 211 ссылок.

В литературном обзоре, озаглавленном «ШИРОКОПОРИСТЫЕ КРИОГЕЛИ НА ОСНОВЕ БИОПОЛИМЕРОВ» автор рассмотрел известные подходы к получению биополимерных криогелей на основе полисахаридов, нуклеиновых кислот и веществ белковой природы, а также привел полезные данные о свойствах таких матриц и областях их применения в биотехнологической практике. В заключительной части литературного обзора диссертант обсудил данные об источниках, физико-химических свойствах и биологической активности ряда белково-пептидных биорегуляторов. В целом литературный обзор вполне информативен и отвечает задачам предпринятого исследования, главным образом в отношении получения и изучения свойств белковых криогелей и крио-структуратов.

Экспериментальная глава работы Е.В. Сидорского включает характеристики веществ и препаратов, применявшихся в исследовании, описание методов получения белковых криогелей, изучения их состава, физико-химических свойств и их использования в качестве носителей белково-пептидных биорегуляторов. Автор диссертации также дает подробное описание методик, использованных при выделении, очистке, исследовании физико-химических свойств, анализа состава и биологической активности биорегулятора, изолированного из склеры глаз быка. Необходимо отметить, что диссертант лично и в сотрудничестве с коллегами успешно применил широкий набор приемов выделения, очистки

и анализа, включая хроматографию и электрофорез, методы физико-химического анализа, в частности, молекулярной спектроскопии в УФ- и видимой областях спектра, динамического лазерного светорассеяния, MALDI-TOF-масс-спектрометрии, оптической микроскопии. Достоверность полученных экспериментальных результатов не вызывает сомнений.

Глава «Обсуждение результатов» состоит из трех основных частей, относящихся к собственно криогелям на основе суммарного белка сыворотки крови, далее к склеральному биорегулятору, и, наконец, к результатам биологических испытаний синтезированных криогелей в качестве носителя биорегулятора.

К основным позитивным результатам исследований, проведенных Е.В. Сидорским, следует отнести, во-первых, грамотно проведенную оптимизацию метода синтеза и получение новых широкопористых криогелей на основе суммы белков сыворотки крови с использованием для индукции гелеобразования добавки денатуранта и тиольного восстановителя. Во-вторых, данные о составе полимерной фазы полученных криогелей, подтвердившие, что в состав полимерной сетки полученных криогелей помимо цепей сывороточного альбумина включаются полипептиды, относящиеся к иммуноглобулинам, трансферринам и глобулинам. В-третьих, разработка схемы выделения и очистки белково-пептидного биорегулятора из склеральной ткани глаза быка, получение биорегулятора в препаративных количествах и экспериментальные данные о его составе, физико-химических и некоторых биологических свойствах. В-четвертых, что представляется наиболее важным в отношении практической значимости представленной работы, - это наглядная демонстрация эффективности применения синтезированных Е.В. Сидорским криогелей в качестве носителей белково-пептидных биорегуляторов для их доставки к биологической мишени.

Еще раз хотелось бы отметить значительный объем выполненных диссертантом экспериментальных исследований и достоверность результатов, полученных благодаря использованию современных высокоинформативных методов физико-химического анализа и адекватной интерпретации полученных данных.

По диссертационной работе Е.В. Сидорского можно сделать следующие замечания.

1. Несомненный интерес представляют данные о составе полимерной фазы новых белковых криогелей, синтезированных диссертантом на основе суммарных белков сыворотки крови. Результаты аналитического гель-электрофореза в денатурирующих условиях показали (рисунок 16) наличие в солюбилизованных стенках макропор полипептидных цепей, отно-

сящихся не только к сывороточному альбумину, но также и к некоторым другим белкам сыворотки крови. Однако, это только качественные данные, а количественный анализ содержания и соотношения этих компонентов в сравнении с теми же показателями для исходной сыворотки в работе не проведен, хотя для этого можно было бы просто проденситометрировать окрашенные полосы соответствующих электрофореграмм. В итоге диссертант получил бы возможность оценить не только качественный состав полимерной фазы полученных криогелей, но и выяснить сохраняется ли количественное соотношение белков в исходной сыворотке при сравнении с их соотношением в составе стенок макропор криогелей.

2. Кривые на рисунке 28 в диссертации, обозначенные как «тонкая линия» и «пунктирная линия», плохо различимы. Наверное, было бы целесообразно привести эти КД-спектры в разных цветах.

3. В разделе 3.2.12 диссертации, посвященном *in vivo* тестированию систем «носитель-биорегулятор» указано, что в экспериментах на лабораторных животных использовался белково-пептидный биорегулятор, выделенный из сыворотки крови крупного рогатого скота, но не приведены данные о составе и свойствах такого биорегулятора, хотя он, конечно, отличается по этим показателям от склерального биорегулятора, изученного самим диссертантом.

4. В Экспериментальной части следовало бы указать чистоту использованных реагентов.

5. В тексте диссертации встречаются опечатки, а также неверное, строго говоря, наименование вещества генипина – дженипин. Генипин изначально выделен из растения *Genipa Americana* (лат.), чем и объясняется его название.

Приведенные замечания не снижают общего хорошего впечатления от работы и в основном носят частный характер. Опубликованные диссертантом материалы, а именно 8 статей в научных журналах, включенных в перечень ВАК, 1 патент и 4 тезисов докладов на научных конференциях, как и автореферат отражают содержание работы. Диссертация Сидорского Е.В. соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по пп. 3 и 8.

Диссертационная работа является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором диссертации исследований фундаментального и прикладного характера изложены данные по получению новых криогенно-структурированных полимерных носителей белково-пептидных веществ и их биологических

испытаний. Полученные данные имеют практическую ценность и могут быть использованы для развития технологий доставки биологически активных веществ в медицине, а также в науке о биоматериалах.

Диссертация «Синтез, свойства и применение в качестве биосовместимых носителей веществ пептидной природы широкопористых криогелей на основе белков сыворотки крови», соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в пп. 9-14 «Положения о присуждении научных степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (с изменениями и дополнениями от 26.09.2022).

Считаю, что Егор Владимирович Сидорский заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник Лаборатории полимеров для биологии Государственного научного центра Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), доктор химических наук

(03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнология), 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения)

Капустин Дмитрий Валерьевич

Тел.: +7(916)-277-60-94

e-mail: kapustin@ibch.ru



117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГНЦ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН), тел.: +7 (495) 335-01-00, e-mail: office@ibch.ru, web-site: www.ibch.ru.

Подпись Капустина Д.В. заверяю:

Ученый секретарь ИБХ РАН

д.ф.-м.н. проф.

25 апреля 2023 г.



В.А. Олейников