



МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«МИРЭА – Российский технологический университет»

РТУ МИРЭА

просп. Вернадского, д. 78, Москва, 119454
тел.: (499) 215 65 65 доб. 1140, факс: (495) 434 92 87
e-mail: mirea@mirea.ru, http://www.mirea.ru

«Утверждаю»

Прокопов Николай Иванович,
доктор химических наук,
первый проректор федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования «МИРЭА –
Российский технологический
университет» Министерства науки
и высшего образования Российской
Федерации



2023 г.

О Т З Ы В

ведущей организации

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 научной специальности 1.5.6. Биотехнология.

Создание новых полимерных веществ и материалов на их основе, обладающих ценным комплексом химических, биохимических и биотехнологических свойств, относится к одной из актуальных проблем современной химии полимеров, технологии биомедицинских материалов и биотехнологии. В этом ключе в последнее время большое внимание привлекают функционально-активные природные полимеры, в частности, белки из доступных источников, а также нетоксичные, биосовместимые и

биоразлагаемые материалы на основе этих белков. Одним из привлекательных примеров таких источников белков является сыворотка крови животных и сыворотка крови человека, естественно, доступная в меньшей степени. Как хорошо известно, основным белком там – это сывороточный альбумин. Однако, собственно сывороточный альбумин, специально выделенный и очищенный от других белков, довольно дорог. Поэтому с практической точки зрения более перспективно формировать целевые белковые материалы не из индивидуального альбумина, а, когда это возможно, на основе суммы всех белков сыворотки без их фракционирования.

Как раз именно такой подход был использован в диссертационной работе Сидорского Е.В. для получения новых криогенно-структурированных гелевых материалов – так называемых криогелей, предназначенных для применения в качестве биосовместимых носителей веществ пептидной природы. Подобные носители и их свойства ранее известны не были, поэтому исследования диссертанта, связанные с синтезом новых криогелевых матриц, их характеристикой и изучением операционных возможностей в качестве носителей выделенного из тканей склеры биорегулятора являются актуальными, имеющими как научное, так и прикладное значение. При этом разделы диссертации, посвященные самому белково-пептидному биорегулятору, его выделению, очистке, выяснению состава, структуры, и проявляемой биологической активности, органично сочетаются с основными задачами работы.

Кандидатская диссертация Сидорского Е.В. построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть, обсуждение результатов и список литературы. Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста и включает 49 рисунков, 5 таблиц, а список литературы содержит 211 ссылок.

Литературный обзор состоит из двух смысловых разделов:

1) Описание и обсуждение свойств криогенно-структурированных гелевых материалов на основе различных биополимеров, которые в настоящее время используются в биомедицине и биотехнологии. Автором подчеркивается эффективность применения криогелей в качестве носителей биологически активных веществ, в частности веществ белково-пептидной природы.

2) Рассмотрение физико-химических свойств и биологической активности ряда белково-пептидных биорегуляторов, выделенных из различных источников.

Анализ большого массива литературных источников позволил автору выбрать и обосновать основные направления работы, сформулировать цель и задачи исследования.

В методическом разделе диссертации дана характеристика исходных веществ, а также описание широкого спектра современных экспериментальных методов и методик, использованных в работе.

Глава 3 диссертационной работы Сидорского Е.В. «Обсуждение результатов» состоит из трех основных разделов. Первый из них касается синтеза криогелей на основе суммы белков сыворотки крови, исследованию их физико-химических свойств и микроструктуры. Второй раздел этой главы посвящен выделению и очистке белково-пептидного биорегулятора ткани склеры глаз крупного рогатого скота, изучению состава этого биорегулятора и его физико-химических свойств, а также оценке его специфической активности. Третий раздел относится к результатам *in vitro* и *in vivo* биотестирования криогелей на основе сыворотки крови в качестве носителей белково-пептидного биорегулятора ткани склеры.

В итоге проведенных диссертантом исследований были получены новые широкопористые криогели на основе суммы белков сыворотки крови, когда формирование материала происходило в замороженном растворе белков в присутствии денатуранта (мочевина) и тиола (цистеин), индуцирующих гелеобразование. Автором работы определены оптимальные параметры такого синтеза. В результате найдено, что выход гель-фракции, степень набухания

полимерной фазы, а также широкопористая морфология образующегося губчатого полимерного материала, зависят как от концентрации компонентов исходного раствора, так и температурно-временных режимов его криогенной обработки. Методом гель-электрофореза диссертантом показано, что в состав полимерной сетки полученных криогелей помимо цепей сывороточного альбумина включаются полипептиды, относящиеся к иммуноглобулинам, трансферринам и глобулинам.

Диссертантом из ткани склеры глаза быка был выделен биорегулятор, представляющий собой пептидно-белковый комплекс изоформы альбумина и пептидов с молекулярными массами от 1300 до 5000 Да. В ходе исследований состава и свойств этого комплекса показано, что такой биорегулятор в водных растворах образует термостабильные наноразмерные частицы, а также проявляет свойства шаперона, ингибируя ДТТ-индуцированную агрегацию альбумина и лизоцима, предотвращая разворачивание α -спиралей этих белков и их переход в β -структурированное состояние.

В финальной части своей работы Сидорским Е.В. в сотрудничестве со специалистами биомедицинских дисциплин в опытах *in vivo* была продемонстрирована возможность использования синтезированных криогелей на основе суммарных белков сыворотки крови в качестве носителей белково-пептидных биорегуляторов для их доставки к биологической мишени.

Весь комплекс проведенных исследований, относящихся как к полимерной части работы, так и к ее биотехнологическим аспектам, позволил диссертанту показать возможность получения широкопористых криогелей на основе суммарного белка сыворотки крови и продемонстрировать эффективность таких биополимерных материалов в качестве средств доставки биологически-активных веществ, конкретно, – носителей белково-пептидных биорегуляторов. В свою очередь, выделение биорегулятора из склеры глаз, его очистка, а также физико-химическая и биологическая характеристика, дали возможность Сидорскому Е.В. успешно провести испытания системы

«криогелевый носитель / биорегулятор» на адекватной биологической модели органного культивирования заднего отдела глаза тритонов *Pleurodeles waltl*.

Результаты исследования могут быть использованы на кафедре биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова «МИРЭА – Российский технологический университет», на биотехнологическом факультете МГУ им. М. В. Ломоносова, в ФГБУ НМИЦ ГБ им. Гельмгольца, на кафедре биотехнологии, химии и стандартизации ТвГТУ, в институте общей и экспериментальной биологии СО РАН.

Можно отметить некоторые недостатки и неточности в работе, которые, однако, не носят принципиального характера.

- В текстах диссертации и автореферата имеются терминологические неточности и опечатки.
- В работе приведены полученные с помощью оптической микроскопии изображения (рис.15) текстуры образцов белковых криогелей, синтез которых проводился при -15, -20 и -25°C. Дополнительную информацию можно было получить с помощью сканирующей электронной микроскопии в ее низковакуумном варианте, не требующем высушивания изучаемых образцов.
- Подпись к рисунку 29: «КД-спектр БПБ (100 мкг/мл) в 0,01 М натрий-фосфатном буфере, рН 7,2 в области 240-290 нм после термической обработки» – формулировка, которую можно интерпретировать, что показан КД-спектр после термической обработки спектра.

Большой объем исследования, использование широкого набора современных методов и адекватный анализ полученных результатов является гарантией достоверности результатов, приведенных в диссертации. Работа написана литературным языком, аккуратно оформлена, выбор тематики литературного обзора обоснован.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основное содержание диссертации.

Заключение. По тематике, предмету и методам исследования диссертация Сидорского Е.В. соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по следующим пунктам: п. 3 и п. 8. Считаем, что диссертация Сидорского Егора Владимировича является завершенной научно-квалификационной работой, проведенной на высоком уровне с применением современных методов исследований, в которой изложены новые научно обоснованные решения, имеющие существенное значение для развития биотехнологии.

Основные достижения диссертанта, составившие научную новизну, значимость исследования и практическую ценность полученных результатов, можно сформулировать следующим образом:

1. Автором диссертации разработана методика синтеза, получены и исследованы новые биотехнологически важные криогенно-структурированные полимерные носители на основе суммарного белка сыворотки крови.

2. Существенным достижением явилось экспериментальное доказательство включения не только альбумина, но и других белковых компонентов сыворотки с состав полимерной сетки синтезированных криогелей.

3. Диссертантом разработана методика выделения и очистки склерального пептидо-белкового биорегулятора, а также получены данные о его составе и физико-химических свойствах.

4. В работе получены ранее неизвестные биологически-активный препарат - губчатый белковый носитель с адсорбированным биорегулятором. Проведенные *in vitro* и *in vivo* испытания препарата показали перспективность подобных систем для решения ряда биомедицинских задач.

Таким образом, диссертационная работа Сидорского Е.В. по объему, уровню выполнения, важности и актуальности полученных результатов полностью соответствует требованиям к кандидатским диссертациям,

изложенным в пп. 9-14 Положения о присуждении научных степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями от 26.09.2022 г.), а Сидорский Е.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология.

Отзыв рассмотрен и обсужден на заседании кафедры Биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова «МИРЭА – Российский технологический университет» (протокол № 9 от 14 апреля 2023 года).

Отзыв составили:

заведующий кафедрой Биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова «МИРЭА – Российский технологический университет»
доктор технических наук, профессор
02.00.10. Биоорганическая химия

e-mail: doctorkedik@yandex.ru; тел. 8-9853019321



С.А. Кедик

Профессор кафедры Биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова «МИРЭА – Российский технологический университет»
доктор химических наук, профессор
02.00.10. Биоорганическая химия

e-mail: alex.kaplun@mail.ru; тел. 8 9163743362



А.П. Каплун