

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

Косыгина ул., д. 4, Москва, 119334,
Тел.: (499) 137-64-20, факс: (499) 137-41-01
E-mail:ibcp@sky.chph.ras.ru

ОКПО 40241274, ОГРН 1037739274308

ИНН/КПП 7736043895/773601001

26.09.2024 № 1213.0215/469

на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук

д.х.н., проф. И.Н. Курочкин



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук на диссертационную работу Шарикова Романа Викторовича «СТРУКТУРНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ СПИДРОИНОВ В УСЛОВИЯХ СДВИГОВЫХ ДЕФОРМАЦИЙ В РАЗЛИЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ НАНОВОЛОКНИСТЫХ НЕТКАНЫХ МАТЕРИАЛОВ», представленную на соискание степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Актуальность темы и цели диссертационной работы

Диссертационная работа Шарикова Р.В. посвящена исследованию структурных особенностей и свойств малоизученных, уникальных по своему аминокислотному составу рекомбинантных белков спидроинов и материалов на их основе. Рекомбинантные спидроины, как и природные обладают рядом свойств: биосовместимостью, нетоксичностью и исключительными физико-механическими характеристиками, в связи с этим материалы на их основе могут быть использованы в качестве изделий для биомедицинского применения: тканевой инженерии и регенеративной медицины. Однако стоит понимать, что структурные свойства даже в природных спидроинах не до конца изучены, поэтому исследование структурных превращений новых рекомбинантных белков, перспективных в различных областях науки и технологий, является актуальной задачей. Результаты данной диссертационной

работы, несомненно, позволят создавать персонализированные материалы с заданными структурой и свойствами.

Цель диссертационной работы Шарикова Р.В. заключалась в исследовании структурных перестроек рекомбинантных спидроинов rS1/9 и rS2/12 в различных растворителях при внешних воздействиях (сдвиговые деформации, изменение состава растворителя, обработка спиртом) для разработки методов получения материалов на их основе с регулируемыми свойствами.

Научная новизна полученных при этом экспериментальных результатов также не вызывает сомнений. В диссертационной работе подробно отражены структурные переходы на всех стадиях выделения и очистки белков. В частности, очень интересны полученные диссертантом результаты об отличии в структурных перестройках белков, зависящих как от внешних воздействий при получении, так и от аминокислотного состава. Отдельно стоит отметить комплексный подход к исследованию структурообразования рекомбинантных спидроинов под действием сдвиговых деформаций. Важные результаты были получены при исследовании физико-механических свойств индивидуальных нановолокон на основе исследуемых белков – модуль на изгиб волокон с диаметром менее 200 нм может достигать значений 80 ГПа, а регулирование данного значения может достигаться путем изменения диаметра волокна, путем создания нетканых волокнистых материалов методом электроформования с заданными свойствами.

Диссертационная работа имеет общепринятую **структуру** и состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения и выводов, списка литературы, включающего 132 источника. Работа изложена на 152 страницах машинописного текста и содержит 73 рисунка и 9 таблиц.

Во **введении** автором четко обоснованы и сформулированы актуальность работы, степень разработанности темы исследования, цели и задачи работы, научная новизна, практическая и теоретическая значимость, используемые

методологии и методы диссертационного исследования, личный вклад автора и сведения об апробации работы.

В первой главе диссертации представлен **литературный обзор**, посвященный сравнению свойств материалов для биомедицины на основе синтетических и природных полимеров. Особое внимание уделено таким природным полимерам как фиброин шелка и спидроины. Рассмотрены подходы к изучению структурных особенностей материалов на основе фиброина шелка и спидроинов, а также к созданию нетканых волокнистых материалов методом электроформования на их основе.

Во второй главе диссертации (**Экспериментальная часть**) Шариковым Р.В. подробно описаны объекты исследования (рекомбинантные спидроины), используемые в данной работе, разработанные методики получения растворов и материалов на их основе, методы исследования их характеристик. Представлены разработанные подходы к получению нетканых волокнистых материалов методом электроформования. Материал этой главы изложен четко и наглядно демонстрирует грамотное использование диссертантом комплекса современных методов физико-химического анализа изучаемых объектов, включая динамическое и статическое светорассеяние рекомбинантных спидроинов, реологические исследования растворов на их основе, исследование микроструктуры методами сканирующей, просвечивающей, криоэлектронной и атомно-силовой микроскопии, исследование вторичной структуры белков и ее анизотропии в материалах методами рентгеновского рассеяния и инфракрасной спектроскопии.

В **третьей главе** диссертации содержатся результаты проведенных исследований. Раздел состоит из трех больших подразделов, посвященных исследованию поведения исследуемых рекомбинантных спидроинов в процессе их выделения; влияния природы растворителя на структурную организацию белков в растворах; исследованию прядильных растворов, получению пленочных и нетканых материалов методом электроформования и изучению их надмолекулярной организации и механических свойств. Автор определяет

вязко-упругие характеристики растворов рекомбинантных спидроинов.

Диссертантом подробно и комплексно исследовано поведение рекомбинантных спидроинов rS1/9 и rS2/12 на всех этапах их выделения и очистки из биомассы дрожжей. Установлены закономерности образования фибриллярных структур в растворе под влиянием смены растворителя в ходе выделения и приложенных сдвиговых деформаций. Изучена агрегативная способность исследуемых белков в растворах, и рядом методов однозначно установлено, что внешние воздействия на растворы рекомбинантных спидроинов приводят к образованию межмолекулярной сетки зацеплений, что приводит к неньютоновкому характеру течения. Также можно отметить, что в работе четко прослеживаются отличия в поведении изучаемых белков, которое в дальнейшем влияет на структурные и физико-химические параметры получаемых материалов.

Автором продемонстрирована возможность формования на основе рекомбинантных спидроинов. Было произведено успешное получение нетканых волокнистых материалов с использованием исследуемых белков, а также изучена их структура. Важным фактом, который успешно доказан в работе, является анизотропия свойств волокон и материалов на основе спидроинов rS1/9 и rS2/12.

Все **выводы** достоверны, обширны, хорошо обоснованы и содержат информацию об основных достижениях диссертационного исследования.

Теоретическая значимость работы заключается в установлении зависимости влияния внешних воздействий на растворы и материалы на основе рекомбинантных спидроинов и структурных превращений исследуемых белков.

Практическая значимость состоит в понимании и возможности регулирования свойств получаемых материалов для разработки персонализированных изделий с необходимыми структурой и свойствами.

Достоверность результатов диссертационной работы не вызывает сомнений и подтверждается использованием современных экспериментальных физико-химических методов исследования и анализа, воспроизводимостью

результатов, общепринятых научных подходов, апробацией результатов в 13 тезисах научных конференций и 4 статьях в рецензируемых высокорейтинговых научных журналах. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертационной работы. Диссертация Шарикова Р.В. является полноценным, законченным научным исследованием, обладающим всеми признаками актуальности, новизны, практической и теоретической значимости.

Диссертационная работа выполнена на высоком уровне и не вызывает принципиальных возражений, однако имеется ряд незначительных замечаний:

1. На наш взгляд необходимо более четко обосновать выбор концентраций растворов спидроинов, используемых для электроформования нетканых материалов.
2. Известно, что материалы, полученные методом электроформования, содержат остаточный поверхностный заряд, что, несомненно, может сказываться на их биологических свойствах. Учитывалось ли это при исследованиях?
3. Аналогичный вопрос касается и использования агрессивных растворителей при прядении материалов.
4. Отметим, что методом электроформования из водного раствора муравьиной кислоты был получен материал с добавлением волокнообразующей добавки, концентрация которой превосходила содержание белка в растворе. Поэтому возникает вопрос: материал на основе рекомбинантного спидроина или с его добавлением?

Вместе с тем, указанные замечания не снижают научную значимость проведенного исследования и общую высокую положительную оценку диссертационной работы.

Результаты, полученные в диссертационной работе, представляют научный и практический интерес по таким направлениям как химия, физическая химия, высокомолекулярные соединения и нанотехнологии, и могут быть использованы в следующих организациях: НИЦ «Курчатовский

институт», ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, МИРЭА-РТУ, ИСПМ им. Н.С. Ениколопова РАН, ИНЭОС А.Н. Несмеянова РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова и других научных и образовательных учреждениях.

Диссертационная работа Шарикова Р.В. на тему «Структурные превращения рекомбинантных белков спидроинов в условиях сдвиговых деформаций в различных растворителях при получении нановолокнистых нетканых материалов» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по исследованию структурных превращений рекомбинантных спидроинов в условиях внешних воздействий для создания материалов на их основе, что имеет большое значение для развития химии высокомолекулярных соединений. Работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук согласно п. 9-14 Положения ВАК «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в действующей редакции) и соответствует паспорту специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения (п. 1, 3, 5, 7, 9), а ее автор Шариков Роман Викторович заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Диссертационная работа и доклад Шарикова Р.В. обсуждены 17.09.2024 г. на заседании семинара Лаборатории физико-химии композиций синтетических и природных полимеров (протокол №19 от 17 сентября 2024 г.) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН).

Секретарь семинара:

Старший научный сотрудник Лаборатории физико-химии композиций синтетических и природных полимеров ИБХФ,
кандидат химических наук



Монова Т.В

17.09.2024

Отзыв подготовил:


Попов Анатолий Анатольевич

Профессор, доктор химических наук (02.00.06 –
Высокомолекулярные соединения), заведующий
лабораторией физико-химии композиций
синтетических и природных полимеров ФГБУН
Института биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН

119334, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4

Тел.: +7(926)558-37-24

E-mail: anatoly.popov@mail.ru


17.09.2024 Попов А.А.

Подписи к.х.н. Монаховой Т.В. и д.х.н. Попова А.А. заверяю:

Ученый секретарь ИБХФ РАН, к.б.н.  Скалацкая С.И.

20.09.2024

