

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.161.02,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА
ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИМ. А. Н. НЕСМЕЯНОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15 октября 2024 г. № 15

О присуждении Шарикову Роману Викторовичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация «Структурные превращения рекомбинантных белков спидроинов в условиях сдвиговых деформаций в различных растворителях при получении нановолокнистых нетканых материалов» по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения **принята к защите** 28 июня 2024 г. (протокол № 14) диссертационным советом 24.1.161.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук, 119334, Москва, ул. Вавилова д. 28 стр. 1, приказ о создании совета №105/НК от 11.04.2012 г.

Шариков Роман Викторович, 23 июля 1994 года рождения, окончил с отличием в 2018 г. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)», по направлению подготовки 03.04.01 «Прикладные математика и физика».

В период подготовки и выполнения работы Шариков Р.В. обучался в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт») с 2018 по 2022 год и работал в лаборатории полимерных материалов отдела нанобиоматериалов и структур Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский

институт» в должности лаборанта-исследователя и младшего научного сотрудника. С 2023 года по настоящее время работает в Курчатовском комплексе НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт» в должности инженера 1 категории.

Диссертационная работа «Структурные превращения рекомбинантных белков спидроинов в условиях сдвиговых деформаций в различных растворителях при получении нановолокнистых нетканых материалов» **выполнена** Шариковым Романом Викторовичем в лаборатории полимерных материалов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт».

Научный руководитель:

Доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник отдела нанобиоматериалов и структур Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт» Чвалун Сергей Николаевич;

Официальные оппоненты:

Цветков Николай Викторович – доктор физико-математических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой молекулярной биофизики и физики полимеров Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург;

Молчанов Вячеслав Сергеевич – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном директором, доктором химических наук, профессором И.Н. Курочкиным, (заключение составлено Поповым А.А., доктором химических

наук, профессором, заведующим лаборатории физико-химии композиций синтетических и природных полимеров) указала, что диссертационная работа Шарикова Р.В. представляет собой завершённую научно-квалификационную работу и имеет большое значение для развития химии высокомолекулярных соединений, а **научная новизна, практическая и теоретическая значимость** работы не вызывает сомнений, так как автором получен ряд новых результатов, имеющих как фундаментальное, так и прикладное значение.

Актуальность работы обусловлена необходимостью изучения структурных особенностей и свойств малоизученных рекомбинантных спидроинов и материалов на их основе. Природная паутина обладает рядом уникальных свойств, которые зависят от структуры белков и способа ее получения. Рекомбинантные спидроины имеют отличия в аминокислотной последовательности, поэтому их поведение может отличаться. Использование рекомбинантных спидроинов для создания материалов имеет большую перспективу в различных областях науки и технологий. Поэтому изучение структурных свойств таких объектов важно для получения персонализированных изделий с заданными структурой и свойствами.

По актуальности, новизне экспериментального материала и достоверности выводов представленная работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, установленным в п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года в действующей редакции, а ее автор, Шариков Роман Викторович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Результаты работы Шарикова Р.В., содержащие данные о структурных превращениях рекомбинантных спидроинов при внешних воздействиях в растворах, материалах на их основе, и исследовании их свойств рекомендованы к ознакомлению и использованию в области химии, физической химии, высокомолекулярных соединений и нанотехнологий 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.

Основные результаты работы отражены в 4 статьях в научных журналах, включенных в перечень ВАК, и 13 тезисах докладов на научных международных и российских конференциях.

Работы по теме диссертации включают 1 статью в журналах первого и 1 статью второго квартиля. Диссертационное исследование представлено в 13 тезисах докладов на конференциях. Опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертационного исследования, в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Основные работы:

1. Tenchurin T.K. Effect of Recombinant Spidroins Self-Assembly on Rheological Behavior of Their Dispersions and Structure of Electrospun Nanofibrous Materials / T.K. Tenchurin, **R.V. Sharikov**, S.I. Belousov, D.R. Streltsov, S.N. Malakhov, E.V. Yastremsky, Y.M. Chesnokov, L.I. Davydova, V.G. Bogush, S.N. Chvalun // *Polymers*. – 2023. – V. 15. – №. 14. – P. 3001.
2. **Sharikov R.V.** Effect of shear on structural organization of various recombinant spidroins / **R.V. Sharikov**, T.Kh. Tenchurin, S.I. Belousov, D.R. Streltsov, L.I. Davydova, E.V. Yastremsky, V.G. Bogush, S.N. Chvalun // *Macromolecular Symposia*. – 2022. – V. 404. – №. 1. – P. 2100421.
3. Tenchurin T.Kh. Modification of non-woven materials based on sodium alginate for tissue-engineering / T.Kh. Tenchurin, M.M. Pavlovsky, A.D. Shepelev, V.G. Mamagulashvilli, V.I. Gomzyak, N.G. Sedush, S.V. Krashenninnikov, A.A. Puchkov, S.N. Malakhov, **R.V. Sharikov**, S.N. Chvalun // *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing. – 2019. – V. 1347. – №. 1. – P. 012072.
4. Тенчурин Т.Х. Новые перспективные материалы на основе рекомбинантного и регенерированного шелка для медицины и конструкционных тканей / Т.Х. Тенчурин, **Р.В. Шариков**, С.Н. Чвалун // *Российские нанотехнологии*. – 2019. – Т. 14. – № 7-8. – С. 3-22.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы:

1) От Марихина В.А., д.ф.-м.н., ведущего научного сотрудника ФГБУН Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН. Отзыв не содержит замечаний.

2) От Щербины М.А., д.ф.-м.н., ведущего научного сотрудника лаборатории функциональных полимерных структур ФГБУН Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН. Отзыв содержит два замечания, а именно:

1. Автор весьма вольно использует термин «самоорганизация», применяя его, например, к третичной и четвертичной (самосборка) структуре белка.

2. Большинство графиков и таблиц в работе не содержит оценки ошибок, что дает повод сомневаться в представленных автором экстраполяциях.

3) От Иванова Д.А., д.х.н., Заведующего научным направлением Биоматериалы научного центра Генетики и Наук о Жизни Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус». Отзыв содержит пять замечаний, а именно:

1. Хотелось бы увидеть более подробные структурные данные, касающиеся изменения кристалличности в зависимости от типа обработки.

2. Проводились ли малоугловые измерения в ходе сдвиговых деформаций?

3. На малоугловых кривых на рис 12в вызывает вопрос участок кривых выше примерно 0.2 нм⁻¹: является ли эта ступенька недовычетом фона или это форм-фактор волокон?

4. Каким образом измерялась пористость?

5. Проверялось ли остаточное содержание растворителя (ГФИП) в волокнах после электроформования? Требовалась ли дополнительная сушка?

4) От Скворцова И.Ю., к.х.н., ведущего научного сотрудника лаборатории № 11 реологии полимеров ФГБУН Ордена Трудового Красного Знамени Института нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН. Отзыв содержит четыре замечания, а именно:

1. На странице 8 вызывает вопросы фраза «Золь-гель переход в растворах обоих РС происходит при частоте выше 10 с⁻¹, поэтому дальнейшие измерения производили при частоте 5 с⁻¹». Золь-гель переход в данном

случае — некорректная фраза. Как частота деформации образца в условиях линейной вязкоупругости может сказываться на процессе формирования геля из золя? Как автор по данной зависимости может судить о наличии золь-гель перехода в системе? Также на оси абсцисс опечатка: указана размерность угловой частоты в с^{-1} , тогда как угловая частота измеряется в рад/с.

2. На странице 10 написано: «Полученные результаты согласуются с данными реологических исследований, где увеличение скорости сдвига приводит к резкому возрастанию вязкости и напряжения сдвига.» хотя реологические данные, приведённые на Рис. 4, свидетельствуют о снижении вязкости при увеличении скорости сдвига (На данном рисунке зависимость нагляднее представлять в логарифмических координатах).

3. Стр. 10. При первом упоминании требуется расшифровка аббревиатуры ГФИП.

4. Стр. 11: «растворе РС rS2/12 в 2%-ной МК (рис. 8а)», а в подрисуночной подписи 8а написано, что данные соответствуют раствору в 5% МК.

5) От Трофимчук Е.С., к.х.н., старшего преподавателя Химического факультета ФГБОУ ВО Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Отзыв содержит три замечания, а именно:

1. В автореферате указано, что после обработки нетканого материала этанолом значительно повышается его степень кристалличности, однако не указаны сами значения степени кристалличности. Были ли в работе определены численные значения степени кристалличности?

2. Нет объяснения выбора концентрации 8 масс.% для формовочных растворов.

3. Нет одинакового сокращения для массовых концентраций — где-то указано вес.%, где-то указано масс.%.

В отзывах на автореферат указывается, что тема диссертационной работы является актуальной и направлена на исследование структуры рекомбинантных спидроинов, влияния внешних воздействий на структурные перестройки белков и

разработку подходов к электроформованию материалов на их основе. Диссертационная работа Шарикова Р.В. обладает научной новизной, теоретической и практической значимостью.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что д.ф.-м.н. Цветков Н.В. – специалист в области физико-химии полимерных и мезоморфных наноструктур в растворах и расплавах; к.ф.-м.н. Молчанов В.С. – специалист в области физической химии полимеров и самоорганизующихся структур.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук – один из ведущих многопрофильных физико-химических научно-исследовательских институтов, в котором проводятся исследования в области фундаментальных исследований физической сущности химических процессов в биологических и молекулярно-организованных химических системах, а также создания новых материалов медико-биологического применения на основе полимеров, биомакромолекул и наноматериалов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получены важные результаты, обладающие **научной новизной**:

Установлено, что на стадиях выделения и очистки исследуемых рекомбинантных спидроинов происходят структурные превращения белков, а именно, переход от мицеллоподобной в фибриллярную форму. Этап выделения, на котором реализуется этот переход, определяется аминокислотным составом белка.

Впервые установлено, что в водных растворах муравьиной кислоты сдвиговые деформации приводят к реорганизации структуры рекомбинантных спидроинов. Внешнее воздействие на раствор способствует формированию фибриллярных структур и появлению предела текучести.

Впервые показано, что содержание вторичных структур типа β -листов в пленочных и нетканых материалах на основе рекомбинантных спидроинов зависит от типа растворителя и больше при использовании в качестве растворителя водного раствора муравьиной кислоты, по сравнению с

гексафторизопропанолом. **Установлено**, что их последующая обработка этиловым спиртом позволяет увеличить долю β -листов более чем на 10%.

Определены оптимальные условия электроформования нетканых волокнистых материалов с контролируемой структурой и свойствами из растворов исследуемых рекомбинантных спидроинов в различных растворителях.

Теоретическая значимость исследования заключается в том, что:

установлена зависимость между структурными перестройками исследуемых рекомбинантных спидроинов и стадиями их выделения, химической природы растворителя, внешними воздействиями на растворы и материалы.

Значение полученных соискателем результатов исследования для **практики** подтверждается тем, что продемонстрирована возможность получения нетканых материалов методом электроформования из рекомбинантных спидроинов и регулирование их физических свойств; материалы на основе природных полимеров, таких как рекомбинантные спидроины, находят широкое применение в биомедицинском направлении. Понимание процессов изменения структуры в ходе получения материалов, позволит создавать уникальные изделия с регулируемыми заданными свойствами.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что результаты получены с помощью современных экспериментальных методов. Структура исследуемых рекомбинантных спидроинов подтверждена комплексом физико-химических методов анализа: динамическое и статическое светорассеяние, реологические исследования растворов, сканирующая электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, просвечивающая электронная микроскопия, криоэлектронная микроскопия, инфракрасная и ультрафиолетовая спектроскопия, рентгеновское рассеяние в больших и малых углах.

Личный вклад соискателя заключается в поиске и анализе научной литературы, обсуждении задач, подготовке и проведении экспериментов, подборе оптимальных условий для получения нетканых волокнистых материалов методом электроформования, интерпретации полученных результатов, их обобщении и формулировании выводов работы, а также подготовке научных публикаций и представлении докладов по теме диссертации на конференциях.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. Каковы причины наблюдаемого резкого роста модуля на изгиб по мере уменьшения диаметра?
2. Какое количество материала можно получить методом электроформования из исследуемых в работе белков и какой они могут быть формы?
3. Что является движущей силой структурных превращений исследуемых рекомбинантных спидроинов в водных растворах муравьиной кислоты?
4. Необходимо более четко обосновать выбор концентраций растворов спидроинов, используемых для электроформования нетканых материалов.
5. Известно, что материалы, полученные методом электроформования, содержат остаточный поверхностный заряд, что, несомненно, может сказываться на их биологических свойствах. Учитывалось ли это при исследованиях?
6. На стр. 63 (методика) и далее в диссертации динамическое рассеяние света измерено (или обсуждается) только на одном угле – 90 градусов. При изучении сложных многокомпонентных систем, содержащих агрегаты и иные крупные образования, важно убедиться, что все пики на распределениях интенсивности рассеянного света носят диффузионный характер. Это делают, снимая угловые зависимости.
7. На стр. 100-101 указывается, что переход от гексафторизопропанола к 2% раствору муравьиной кислоты приводит к увеличению гидродинамического радиуса от 3-4 нм до 10 нм. И проводится оценка числа молекул rS2/12 в агрегате по данным статического светорассеяния. Вместе с тем, распределения интенсивности света в обоих растворителях носят двухмодульный характер. Хорошо известно, что наличие высокомолекулярной фракции приводит к искажению данных статического рассеяния света. Учитывалось ли это обстоятельство при проведении оценок ММ полимеров и их агрегатов?

8. Из текста диссертации складывается впечатление, что образование фибрилл в растворах при воздействии сдвиговой деформации необратимо. Если это так, то почему?

Соискатель Шариков Р.В. ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию:

1. Увеличение модуля на изгиб может происходить от вклада двух факторов. Это образование структуры типа «ядро-оболочка» и увеличение вклада «оболочки» в механические свойства при уменьшении диаметра волокна, так как при электроформовании происходят большие скорости вытяжки и интенсивное испарение растворителя с поверхности. Вторым фактором является увеличение ориентации нанокристаллических структур в толще волокна при его вытяжке и уменьшении диаметра, что также может влиять на механические свойства.
2. Метод электроформования позволяет получать материалы неограниченного размера, критическим фактором является количество исследуемых рекомбинантных белков. Метод электроформования позволяет получать материалы различной морфологии, например, плоские материалы, трубчатые и с более сложной архитектурой. Форма материала будет зависеть от формы используемого осадительного электрода.
3. Движущей силой является образование водородных связей как внутри одной молекулы, так и на межмолекулярном уровне. Строго говоря, образование фибриллярных структур в растворах может происходить как при внешних воздействиях на раствор, так и со временем. В исследуемых растворах изначально происходит разрушение водородных связей, переход вторичной структуры белков от конформации α -спиралей к β -структурам и их стабилизация.
4. Концентрации белков в водных средах подбирали исходя из их растворимости и реологических свойств растворов. При низких концентрациях растворы не обладают волоконообразующими свойствами, поэтому были использованы волоконообразующие добавки. В

гексафторизопропаноле определенная концентрация обеспечивает стабильный процесс формования и получение бездефектных волокон.

5. Материалы, получаемые методом электроформования, содержат остаточный поверхностный заряд, однако для применения в биологических целях материалы в любом случае обрабатываются этиловым спиртом и далее будут находиться в буферной среде, поэтому остаточного заряда в материалах для биомедицинского применения на поверхности не будет.
6. Данные динамического светорассеяния при разных углах выполнялись, однако не были представлены в диссертационной работе. Основной пик рассеивающих частиц не изменяет своего положения при изменении угла. Это говорит о том, что они рассеивают свет во всех направлениях одинаково и обладают сферической морфологией.
7. Действительно, распределение динамического светорассеяния носят бимодальный характер. Однако интенсивность рассеяния на крупных частицах на порядки выше, чем интенсивность рассеяния на мелких. Поэтому вклад крупных агрегатов при измерении молекулярной массы будет менее 1% и в работе не учитывался.
8. Фибриллообразование – это необратимый процесс. Вследствие возникновения сдвиговых деформаций происходит разрушение вторичной структуры и водородных связей, которые стабилизируют α -спирали, что приводит к образованию вторичных структур типа β -листов в большей степени, которые стабилизируются водородными связями и гидрофобными взаимодействиями.

На заседании 15 октября 2024 г. диссертационный совет принял решение: за установление особенностей структурных превращений рекомбинантных белков спидроинов rS1/9 и rS2/12 в различных средах, определение оптимальных условий электроформования, получение нетканых волокнистых материалов с контролируемой структурой и свойствами присудить Шарикову Роману Викторовичу ученую степень кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 12 докторов наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 18, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель диссертационного совета
24.1.161.02, д.х.н., академик



Музафаров Азиз Мансурович

Ученый секретарь диссертационного
совета 24.1.161.02, к.х.н.



Беломоина Наталия Михайловна

15. 10. 2024 г.