

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Гладиловича Владимира Дмитриевича «Разработка новых металл-аффинных сорбентов, содержащих железо (III), для решения задач фосфопротеомики», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям «Коллоидная химия» – 02.00.11 и «Аналитическая химия» - 02.00.02

Актуальность темы диссертационной работы В.Д. Гладиловича определяется необходимостью разработки металл-аффинных сорбентов для экстракции фосфорилированных по треонину, тирозину и серину белков и пептидов, которые могут найти применение в фосфопротеомном анализе. Фосфорилирование белков по треонину, тирозину и серину является одной из распространенных посттрансляционных модификаций, обеспечивающих формирование многих путей сигнальной трансдукции, важных в сети внутриклеточной регуляции, и активацию транскрипционных факторов. В связи с этим, неизотопные методы идентификации фосфорилированных производных белков и пептидов масс-спектрометрическим анализом имеют важное значение в современных медико-биологических исследованиях. Кроме того, приложения рассматриваемой методологии могут быть использованы в экологических исследованиях с целью идентификации аддуктов белков с фосфорорганическими отравляющими соединениями. В связи с этим, цель диссертационной работы В.Д. Гладиловича, состоящая в разработке и характеристике новых металл-аффинных сорбентов, содержащих железо (III), для применения в фосфопротеомном анализе, осуществляемом масс-спектрометрическим методом, является несомненно **актуальной**.

Научная новизна диссертационной работы В.Д. Гладиловича заключается в ряде основных положений. Соискателем разработаны и охарактеризованы два новых металл-аффинных сорбента, содержащих трехвалентное железо: коллапсированные монослои стеарата железа (металл-хелатный сорбент – МХС) и нанодисперсные частицы оксида железа (металл-оксидный сорбент – МОС), полученные золь-гель методом с совместным самораспространяющимся синтезом, который индуцирован микроволновым излучением. Исследованы структурные и физико-химические свойства

полученных сорбентов. Впервые показана возможность использования коллапсированных монослоев пленок Ленгмюра-Блоджетт на основе стеарата железа (III) в качестве сорбентов для металл-аффинной хроматографии. Впервые золь-гель методом были получены наноразмерные структуры на основе оксида железа (III). Исследована специфичность и селективности разработанных сорбентов на примере фосфорилированных триптических пептидов казеина быка и синтетических пептидов, которые фосфорилированы по различным аминокислотам. В дополнение к этому показана возможность селективного выделения аддуктов зарина с сывороточным альбумином человека методом металл-аффинной хроматографии на сорбентах, содержащих трехвалентное железо. Соискателем были продемонстрированы селективность и специфичность сорбции фосфорсодержащих пептидов из простых и сложных пептидных смесей при использовании разработанных сорбентов, хроматография на которых позволяет получить материал для масс-спектрометрического анализа. Таким образом, избирательное извлечение фосфорилированных пептидов и аддуктов зарина с пептидами из изучаемых образцов дополнительно повышает чувствительность последующего масс-спектрометрического анализа.

Практическое значение диссертационной работы В.Д. Гладиловича заключается в том, что созданные и охарактеризованные по физико-химическим свойствам соискателем металл-аффинные сорбенты могут быть использованы для решения многих частных задач фосфопротеомики в таких областях науки, как аналитическая химия, медицина, биохимия и токсикология.

Диссертационная работа В.Д. Гладиловича состоит из разделов «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Основные результаты», «Список литературы». По всем разделам диссертационной работы автором изучен и проанализирован большой объем литературы, выделены нерешенные вопросы, убедительно обосновывающие необходимость проведения собственных исследований. Четкое и логичное изложение собственного и литературного материала заслуживает одобрения и способствует пониманию основных положений диссертации. Работа выполнена

на современном методическом уровне с использованием методов коллоидной и аналитической химии и масс-спектрометрии. В экспериментальной части работы представлен обширный фактический материал, полученный автором. Диссертация хорошо иллюстрирована, результаты исследований и выводы, вытекающие из этих данных, не вызывают сомнения. Диссертация написана и оформлена по общепринятым правилам, изложена на 116 страницах машинописного текста, иллюстрирована 37 рисунками, 25 таблицами и одним приложением, библиографический указатель состоит из 114 наименований списка литературы.

Таким образом, осуществленная В.Д. Гладиловичем диссертационная работа является экспериментально-прикладным исследованием в области коллоидной и аналитической химии, направленным на разработку новых металл-аффинных сорбентов, содержащих железо (III), с целью обогащения анализируемых проб фосфопротеиновыми соединениями для дальнейшего их применения в фосфопротеомном масс-спектрометрическом анализе в биомедицине и токсикологии.

Отмечая профессиональный уровень написания и оформления диссертационной работы, считаю необходимым заметить, что нельзя считать удачным словосочетание «нативно фосфорилированный белок». Также существует несоответствие наименований идентичных по содержанию разделов автореферата («Выводы») и диссертации («Основные результаты»).

В дискуссионном плане хочу задать соискателю вопрос. Почему в качестве металла для исследования и получения металл-аффинных сорбентов используется Fe (III)? Можно ли было создать металл-аффинные сорбенты на основе других трехвалентных металлов?

Таким образом, диссертационная работа В.Д. Гладиловича «Разработка новых металл-аффинных сорбентов, содержащих железо (III), для решения задач фосфопротеомики» является законченной научно-исследовательской работой экспериментально-прикладного характера, выполненной в области коллоидной и аналитической химии. Опубликованные работы и автореферат полностью

отражают содержание и выводы диссертации. Работа отвечает современным требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденным Постановлением № 842 Правительства РФ от 24 сентября 2013 г., а Гладилевич Владимир Дмитриевич заслуживает присвоения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 02.00.11 – «Коллоидная химия»; 02.00.02 – «Аналитическая химия».

Руководитель лаборатории Общей патологии
НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН
Доктор биологических наук,
профессор



В.Н. Кокряков

1 апреля 2014 года

