

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Шаройко Владимира Владимировича на диссертацию Слюсаренко Марии Александровны на тему: «Двухфазная полимерная система ПЭГ-декстран и механизмы её взаимодействия с везикулярными компонентами плазмы крови», представленную на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. — Высокомолекулярные соединения

Актуальность выбранной темы. Диссертационная работа М.А. Слюсаренко посвящена изучению двухфазной полимерной системы на основе полиэтиленгликоля и декстрана, механизмов ее взаимодействия с везикулярными объектами в многокомпонентных биологических жидкостях с целью их выделения. Актуальность работы связана с тем, что изучаемые двухфазные полимерные системы могут использоваться в биомедицинских исследованиях, например, в ранней диагностике онкологических и других заболеваний, для разделения и выделения биомолекул, супрамолекулярных систем, нановезикул из многокомпонентных биологических жидкостей. Помимо этого, диссертационная работа имеет фундаментальную значимость, связанную с изучением механизмов взаимодействия двухфазной полимерной с наноразмерными объектами различной природы.

Степень обоснованности научных положений и выводов. Диссертация М. А. Слюсаренко представляется цельным, стройным исследованием. Выносимые на защиту положения и выводы, в целом, вполне логично вытекают из проведённого исследования. В тексте диссертации описаны подходы, которые М. А. Слюсаренко использовала для характеристики двойных полимерных систем на основе ПЭГ и декстрана. Отдельное внимание уделено применению комплекса методов: атомно-силовой и криоэлектронной просвечивающей микроскопии, спектроскопии

комбинационного рассеяния, проточной цитофлуориметрии, дот-блота и анализа общего белка для однозначного доказательства факта выделения из плазмы крови внеклеточных нановезикул с помощью системы ПЭГ-декстран. В качестве методики сравнения использовалось выделение внеклеточных нановезикул из плазмы крови с помощью ультрацентрифугирования.

Достоверность результатов и выводов диссертационной работы основывается на большом количестве выполненных экспериментов, их воспроизводимости и согласованности, а также на использовании целого ряда современных физико-химических и биохимических методов, а также статистической обработки результатов.

Научная новизна и практическая значимость.

Научная новизна диссертационной работы связаны с тем, что впервые предложено использовать значение соотношения гидродинамических объемов компонентов двойной полимерной системы (ДПС) в качестве критерия выбора состава двойной полимерной системы, используемой для выделения внеклеточных нановезикул из плазмы крови. В результате выполнения диссертационной работы было установлено, что кроме молекулярной массы полимеров ДПС, применяемой для выделения объектов, которые аффинно не взаимодействуют с компонентами ДПС, следует принимать во внимание в качестве параметров системы и гидродинамические свойства полимеров, такие как характеристическая вязкость и гидродинамический объём их молекул, была найдена система ПЭГ-20 кДа - декстран-500 кДа, обладающая наилучшей эффективностью при выделении внеклеточных нановезикул из плазмы крови. Полученные экспериментальные и теоретические результаты вносят вклад в развитие физико-химии высокомолекулярных соединений. Практическая значимость работы заключается в том, что комплекс полученных данных по изучению двойных полимерных систем позволяет разрабатывать эффективные способы выделения объектов везикулярного типа из многокомпонентных растворов по аналогии с выделением внеклеточных нановезикул из плазмы крови, которые используются для анализа их

поверхностных белков, имеющих важное клинико-диагностическое значение в онкологии. В диссертационном исследовании был разработан биосенсор на основе золотых наночастиц и аптамеров для решения клинической задачи по созданию метода оценки эффективности лечения Лимфомы Ходжкина.

Оценка содержания диссертации, её завершённости, подтверждение публикаций автора. Диссертация М.А. Слюсаренко написана на актуальную тему хорошим научным языком. Методическую и экспериментальную части предваряет подробный литературный обзор, в котором достаточно полно рассмотрено современное состояние проблемы, что, в свою очередь, позволяет автору грамотно поставить цель и задачи исследования. В целом, рассматриваемая диссертация является завершённым исследованием, отличающимся новизной, имеющим научную и практическую значимость. Результаты диссертации достоверны, а выводы научно обоснованы. Материалы диссертации хорошо апробированы. Результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на всероссийских и международных научных конференциях. Полученные результаты опубликованы в двух научных статьях в рецензируемых международных журналах первого и второго квартилей, индексируемых базами данных Scopus и Web of Science, и семи тезисах докладов на международных и всероссийских конференциях. Также по материалам диссертации получено два патента.

По существу диссертации возникли следующие вопросы и замечания

1. Является ли композиция, включающая ПЭГ и декстран, уникальной? Существуют ли альтернативные полимеры для создания систем с аналогичными физико-химическими и аналитическими характеристиками?
2. Можно ли считать использованную систему ПЭГ-декстран универсальной для разработки методик ранней диагностики онкологических заболеваний?
3. Как было показано в работе, оптимальной системой для выделения внеклеточных нановезикул является система, включающая ПЭГ-20 кДа - декстран-500 кДа. С ростом молекулярной массы декстрана наблюдалось увеличение эффективности выделения нановезикул. Почему аналогичного

увеличения эффективности выделения нановезикул не наблюдалось с ростом молекулярной массы ПЭГ?

4. Каким образом проводилась модификация золотых наночастиц аптамерами? Каковы значения дзета-потенциал золотых наночастиц после их модификации аптамерами?

5. Какая чувствительность полученного аптасенсора?

6. Нуклеотидные последовательности используемых в исследовании аптамеров к CD63 и PS1NP были взяты из литературы или получены автором с помощью метода SELEX?

7. В работе не приведён химический состав фосфатно-солевого буфера. Существуют разные составы фосфатно-солевого буфера, которые, например, не содержат соли калия, или наоборот содержат соли кальция или магния, что влияет на ионную силу буферного раствора, это в свою очередь может отражаться на свойствах системы ПЭГ - декстран.

8. На стр. 49 есть неточность в формулировке: «желтый цвет плазме придают плазменные белки, например, билирубин». Билирубин - продукт деградации белков, он является низкомолекулярным соединением ($M = 585$ г/моль).

9. В диссертации не описана процедура выделения внеклеточных нановезикул с помощью двойного ультрацентрифугирования.

Перечисленные выше вопросы и замечания существенно не влияют на основные выводы и положения диссертации М.А. Слюсаренко.

Заключение. Диссертация Слюсаренко Марии Александровны на тему: «Двухфазная полимерная система ПЭГ-декстран и механизмы её взаимодействия с везикулярными компонентами плазмы крови» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Слюсаренко Мария Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-

математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не обнаружены.

Член диссертационного совета

д. б. н., доцент, ведущий научный сотрудник

Института химии СПбГУ



В.В. Шаройко

12.10.2022