

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Трусова Анатолия Анатольевича на диссертацию Слюсаренко Марии Александровны на тему «Двухфазная полимерная система ПЭГ-декстран и механизмы её взаимодействия с везикулярными компонентами плазмы крови», представленную на соискание ученой степени **кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.**

Диссертационная работа Слюсаренко Марии Александровны посвящена изучению двухфазной полимерной систем полиэтиленгликоля и декстрана и механизмы её взаимодействия с везикулярными компонентами плазмы крови.

Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения – выводы, списка публикаций автора по теме диссертации и списка литературы.

Во введении сформулирована цель работы, которая состояла в анализе гидродинамических свойств компонентов двухфазной полимерной системы полиэтилен-гликоль, использовании её для экстрагирования внеклеточных нановезикул плазмы крови и определения критериев выбора параметров двухфазной полимерной системы и для выделения везикулярных объектов.

Изучение двухфазных полимерных систем, которые можно применять для аналитических целей в медицине является особенно актуальным и практически значимым. Именно такой системой является двухфазная полимерная система полиэтиленгликоль - декстран, состоящая из биосовместимых, нетоксичных и коммерчески доступных полимеров.

Глава 1 – литературный обзор посвящена рассмотрению некоторых примеров применению двухфазных полимерных систем, описанию свойств их компонентов, а также описанию внеклеточных нановезикул и их роли в жидкостной биопсии.

Глава 2 – описание экспериментальных методов.

В диссертационной работе использовались следующие методы исследования.

1. Метод динамического рассеяния света, который применялся как один из методов определения функций распределения частиц по

размерам макромолекул и изучаемых комплексов. Метод основан на анализе корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света,

2. Метод анализа траекторий наночастиц, основанного на измерении смещения частиц за счет броуновского движения. Фиксация координат частиц во времени происходит при наблюдении смещения пятна дифракции при попадании лазерного луча на частицы. Из уравнения смещения броуновской частицы можно вычислить коэффициент диффузии, который связан с размером частиц.
3. Ректрофотометрия. Изучение спектров поглощения позволяет определить химический состав растворенного вещества.
4. Рамановское рассеяние света. Данный метод использовался в работе для определения состава проб, а именно анализа распределения внеклеточных нановезикул и полимеров между фаз с помощью спектров комбинационного рассеяния.
5. Атомная – силовая микроскопия. Изображения, полученные методом атомно – силовой микроскопии использовались для оценки степени гетерогенности смеси наночастиц.
6. Просвечивающая электронная криоскопия. В работе просвечивающая электронная криоскопия использовалась для визуализации внеклеточных нановезикул, выделенных из плазмы.
7. Статическое рассеяние света. Этот метод использовался для определения молекулярной массы полимеров.
8. Вискозиметрия. В работе для определения характеристической вязкости полимеров в растворе использовался автоматизированный микровискозиметр Lovis 2000 M/ME. Определив характеристическую вязкость можно с помощью соотношения Марка-Куна-Хаувинга найти значение средневязкостной молекулярной массы, а с помощью соотношения Флори усредненное по конформациям расстояние между концами полимерного клубка.
9. Проточная цитометрия, дот-блоттинг и анализ белков методом Бредфорла. Проточная цитометрия заключается в детекции флуоресцентного сигнала и рассеянного света единичных клеток или частиц. Метод дот-блоттинга основан на флуоресцентном окрашивании пробы перенесённой на мембрану, с последующей регистрацией интенсивности окрашивания. Метод Бредфорда

является калориметрическим методом определения концентрации белков в пробе.

Использованные в диссертационной работе методы исследования обеспечены парком современных и высокоточных приборов ресурсных центров СПбГУ, что позволяет получать точные и надежные экспериментальные данные об исследованных в работе системах.

Глава 3 – Механизмы взаимодействия двухфазной полимерной системы полиэтиленгликоль – декстран с компонентами плазмы крови.

В работе были и изучены гидродинамические свойства полиэтиленгликоля и декстрана в фосфатно-солевом растворе. Были изучены различные сочетания пар в двухфазной полимерной системе, отличающихся молекулярными массами и составом с целью разделения компонентов плазмы крови, определены оптимальные параметры двухфазной полимерной системы полиэтиленгликоль – декстран для фракционирования белков и внеклеточных нановезикул из плазмы крови. Объяснена природа распределения внеклеточных нановезикул и белков между фазами в двухфазной полимерной системе полиэтиленгликоль - декстран с гидродинамической точки зрения. Продемонстрирована эффективность фракционирования внеклеточных нановезикул из плазмы крови путем анализа нижней фазы по физическим и химическим параметрам.

Глава 4 – Практическое применение выделенных внеклеточных нановезикул для анализа состава их поверхностных белков. В главе изложены результаты исследований образования комплексов между наночастицами золота и молекулами аптамеров, определению гидродинамических характеристик полученного биосенсора и исследованию эффекта обратимого ингибирования его фермент-миметических свойств. Задача этой части диссертационной работы являлась разработка биосенсора к поверхностным белковым маркерам внеклеточных нановезикул. В работе показано что модификация наночастиц золота молекулам аптамеров ведет к обратимому ингибированию ферментомиметических свойств наночастиц, которое восстанавливается путем перераспределению аптамеров от наночастиц золота к добавленным внеклеточным нановезикулам. В этой главе диссертации показана эффективность работы полученного биосенсора в рамках решения клинической задачи по созданию метода оценки

эффективности лечения ЛимфомыХоджкина. Этот результат безусловно указывает на практическую значимость диссертационной работы.

Основные результаты опубликованы в двух статьях и материалах восьми международных и российских научных конференций.

По работе следует сделать ряд замечаний

1. При оформлении диссертационной работы допущены ряд недочетов. Например, часть текста на странице 6 (6 строчек) полностью повторены на странице 7.
2. Одним из основных методов исследования является метод динамического рассеяния света, который позволяет находить функции распределения частиц по размерам. В работе используются соотношения для получения корреляционных функций учитывающие только поступательное броуновское движения частиц и не учитывает вклад их вращательного броуновского движения. Однако при изучении дисперсных систем с частицами сравнимых по размерам с длиной волны света используемого лазера вклад вращательного движения следует учитывать. При получении функций распределения частиц по размерам следует учитывать особенности зависимость интенсивности светорассеяния частицами от их размера, особенно в области дифракционного резонанса.

Высказанные замечания не снижают общей положительной оценки диссертационной работы.

Диссертация Слюсаренко Марии Александровнына 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 доктор физ-мат наук,  
профессор, профессор кафедры молекулярной  
биофизики и физики полимеров СПбГУ А.А. Трусков



Дата 07.10.2022