

Протокол № 60

заседания диссертационного совета Д001.022.03

от 27.05.2021

Председатель диссертационного совета - доктор медицинских наук, профессор Васильев Вадим Борисович

Ученый секретарь – доктор биологических наук Хныченко Людмила Константиновна

Слушали: Заключение экспертной комиссии о диссертационной работе Сахабеева Родиона Григорьевича, выполненной на тему «Свойства полимерных биосовместимых микро- и наночастиц на основе полимолочной кислоты и рецепторных белков, связывающих вирусы» на соискание ученой степени кандидата наук.

По отрасли наук: биологические науки

По специальности: 03.01.04 – биохимия

Председатель экспертной комиссии – доктор медицинских наук, профессор Денисенко Александр Дорофеевич

Члены экспертной комиссии: доктор биологических наук, профессор Паткин Евгений Львович; доктор биологических наук, профессор Цымбаленко Надежда Васильевна.

В заключении отмечалось, что диссертационная работа Сахабеева Родиона Григорьевича посвящена актуальной проблеме – разработке новых подходов к созданию противовирусных средств, направленных на нейтрализацию вирусных частиц, на примере вируса гепатита С.

В рамках диссертационной работы автором были получены частицы из полимолочной кислоты, которые были модифицированы рекомбинантными фрагментами рецептора CD81 человека. Установлено, что они способны связывать лиганд — фрагмент оболочечного белка E2 вируса гепатита С. Показано, что для эффективного взаимодействия полученного флуоресцентно меченого фрагмента оболочечного белка E2 вируса гепатита С с модифицированными микрочастицами необходима его ренатурация из телец включения при помощи ступенчатого диализа. Модельный белок слияния бета2-микроглобулина человека с зеленым флуоресцентным белком наиболее эффективно связывается со всеми типами полимерных частиц (по сравнению с зеленым флуоресцентным белком и белком слияния транстиретина человека с зеленым флуоресцентным белком). Изучен клеточный и гуморальный иммунный ответы на конъюгат частиц различных по размеру и составу и модельного белка. Установлено, что

при внутривенном введении конъюгированные частицы на основе полимолочной кислоты и сополимера полимолочной кислоты и полиэтиленгликоля с размерами 100 и 1400 нм с модельным зелёным белком вызывают менее выраженный гуморальный иммунный ответ по сравнению со смесью этих же типов частиц с несорбированным на их поверхности модельным белком.

Представленные в диссертации результаты отличаются **научной новизной**, состоящей в том, что в работе впервые получены частицы полимолочной кислоты разного состава и размера, разработан способ их конъюгации с модельным белком слияния β 2-микроглобулина человека и зеленым флуоресцентным белком sfGFP (β 2M-sfGFP), позволяющим проводить визуализацию частиц. Впервые комплексно изучен клеточный и гуморальный иммунный ответ на препараты микро- и наночастиц их полимолочной кислоты и сополимера полимолочной кислоты с полиэтиленгликолем с иммобилизованным на их поверхности модельным белком. Создана генетическая конструкция рекомбинантного белка большой экстраклеточной петли рецептора CD81 человека и стрептавидина (CD81-SAA). Рекомбинантный белок CD81-SAA получен в чистом виде и охарактеризован. Впервые осуществлена иммобилизация рекомбинантного рецепторного белка CD81-SAA на поверхности частиц полимолочной кислоты. Впервые создан белок слияния оболочечного белка E2 core вируса гепатита С с зеленым флуоресцентным белком (E2-sfGFP). Белок слияния выделен в чистом виде и охарактеризован. Впервые получены комплексы микрочастиц полимолочной кислоты, содержащих на своей поверхности рецепторный белок CD81-SAA, с флуоресцентно меченым белком слияния оболочечного белка E2 core вируса гепатита С (E2-sfGFP). Образовавшиеся комплексы визуализированы с помощью флуоресцентной микроскопии.

Практическая значимость работы заключается в том, что созданная конструкция из микрочастиц полимолочной кислоты и адсорбированных на их поверхности специфических рецепторных белков, способна улавливать вирусные частицы путем взаимодействия с оболочечными белками вируса. Созданная конструкция может найти применение в вирусологии и клинической лабораторной диагностике с целью повышения чувствительности тестов по идентификации вирусов в биологических средах, а также для нейтрализации вирусных частиц и снижения вирусной нагрузки.

Степень достоверности и обоснованности положений, выносимых на защиту, представленных в диссертации, обеспечивается применением современных методов исследования, их хорошей воспроизводимостью и согласованностью.

Результаты диссертационного исследования прошли необходимое рецензирование и апробацию. Материалы работы были доложены автором на международных и российских конференциях, опубликованы в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах, в том числе индексируемых в библиографических базах данных Scopus и РИНЦ. 3 статьи опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК для публикации основных результатов диссертационных исследований.

Выводы корректны и соответствуют поставленным задачам и представленным результатам.

Тема и содержание диссертации соответствуют специальности 03.01.04 – «Биохимия», поскольку источником новых знаний, полученных при посредстве химических и биологических методов, служат результаты экспериментальных исследований на животных, а также исследования тканей и жидкостей животных, имеющие клиническое значение. Содержание работы составляет разработка методов получения природных веществ и их комплексов в непосредственной связи с биологической функцией этих соединений, выяснение их физиологического действия и возможностей применения полученных веществ в медицине, в частности в целях противодействия вирусным инфекциям.

Постановили:

1. Утвердить заключение комиссии о соответствии диссертации Сахабеева Родиона Григорьевича на тему «Свойства полимерных биосовместимых микро- и наночастиц на основе полимолочной кислоты и рецепторных белков, связывающих вирусы» на соискание ученой степени кандидата наук профилю диссертационного совета Д001.022.03 и паспорту специальности 03.01.04 – биохимия.

2. Принять диссертационную работу Сахабеева Р.Г. на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия к открытой защите.

3. Назначить по рассматриваемой диссертации *ведущую организацию* – **Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук**, являющийся одним из ведущих научных центров по исследованию и разработке новых наноносителей для диагностики и терапии социально значимых заболеваний.

4. Назначить официальных оппонентов:

Васина Андрея Владимировича - доктора биологических наук, и.о. директора Института биомедицинских систем и биотехнологий Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого (СПбПУ). Васин А.В. известен своими

исследованиями в области новых методов молекулярной диагностики вирусных инфекций и разработки инновационных лекарственных и вакцинных препаратов, в том числе на основе малых интерферирующих РНК и пептидов;

Саранцеву Светлану Владимировну - доктора биологических наук, руководителя Лабораторией экспериментальной и прикладной генетики, заместителя директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» НИЦ «Курчатовский институт». Саранцева С.В. является признанным специалистом в области изучения белковых структур, в исследовании наноматериалов, в разработке новых препаратов для лечения болезни Альцгеймера, в анализе молекулярных и клеточных механизмов патогенеза нейродегенеративных и нейро-мышечных заболеваний.

5. **Предполагаемая дата защиты** – 21 октября 2021 г.

6. **Утвердить** список организаций и лиц рассылки авторефератов.

7. **Разрешить** опубликовать автореферат на правах рукописи.

Председатель
диссертационного совета



Васильев
Васильев Вадим Борисович

Ученый секретарь
диссертационного совета

Хныченко
Хныченко Людмила Константиновна