

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.225.02,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КАЗАНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 29.09.2022 № 20

О присуждении **Макаровой Анастасии Олеговне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация **«Структура и физико-химические свойства белок-полисахаридных гидрогелей, армированных углеродными нанотрубками»** по специальности 1.5.2 – биофизика принята к защите 23.06.2022 г. (протокол заседания № 18) диссертационным советом 24.1.225.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский Научный Центр Российской академии наук» (ФИЦ КазНЦ РАН) Министерства образования и науки Российской Федерации 420111, г. Казань, ул. Лобачевского д. 2/31 (приказ Минобрнауки РФ №788/нк от 09.12.2020 г.).

Соискатель, Макарова Анастасия Олеговна, «25» августа 1993 года рождения, в 2015 году окончила ФГБОУ ВПО «Казанский государственный энергетический университет» по направлению подготовки 11.03.04 «Электроника и наноэлектроника» по профилю «Промышленная электроника» с присвоением квалификации бакалавр. В 2017 году окончила ФГБОУ ВО «Казанский государственный энергетический университет» по направлению подготовки 11.04.04 «Электроника и наноэлектроника» по

профилю «Физика полупроводников и диэлектриков» с присвоением квалификации магистр. В 2021 г. окончила очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Казанском институте биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН) по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки» по специальности «Биофизика».

Макарова А.О. с 2017 года по настоящее время работает в лаборатории биофизической химии наносистем КИББ - обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН Министерства науки и высшего образования РФ, в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в лаборатории биофизической химии наносистем КИББ - обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН Министерства науки и высшего образования РФ.

**Научный руководитель** – доктор химических наук, профессор Зуев Юрий Федорович, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биофизической химии наносистем КИББ ФИЦ КазНЦ РАН.

**Официальные оппоненты:**

1. **Холявка Марина Геннадьевна** – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биофизики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», г. Воронеж.

2. **Селиванова Наталья Михайловна** – доктор химических наук, доцент, профессор кафедры физической и коллоидной химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань

Оба оппонента дали положительные отзывы на диссертационную работу Макаровой А.О.

**Ведущая организация** – Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов (ИБФРМ РАН) – обособленное структурное подразделение

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», г. Саратов, в своем положительном отзыве, подписанным заведующим лабораторией иммунохимии ИБФРМ РАН, доктором химических наук, профессором Щеголевым Сергеем Юрьевичем, указано, что диссертационная работа Макаровой А.О. является научной квалификационной работой, выполненной на высоком уровне с использованием традиционных и современных эффективных методов исследования, позволивших изучить структурные, физико-химические и токсикологические свойства белок-полисахаридных гидрогелей с включенными углеродными нанотрубками (УНТ), охарактеризовать пространственную структуру супрамолекулярных белок-полисахаридных комплексов, выяснить вклад УНТ в их формирование, оценить эффекты инкапсуляции ряда фармакологических и диагностических значимых препаратов и ферментов, охарактеризовать цитотоксичность белок-полисахаридных гидрогелей, армированных УНТ.

По актуальности, научной новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемой к кандидатским диссертациям, а ее автор – Макарова Анастасия Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. - биофизика.

Соискатель имеет 25 опубликованных работ по теме диссертации, 6 из которых опубликованы в журналах, индексируемых в международных информационно-аналитических системах научного цитирования, и 1 в рецензируемом российском научном журнале, входящих в перечень журналов, рекомендованных ВАК. Общий объем опубликованных по теме диссертации работ составляет 69 страниц. Работы написаны соискателем в соавторстве с другими исследователями, личный вклад диссертанта заключается в выполнении основной части экспериментов, анализе литературных данных и обобщении полученных результатов.

Диссертационная работа не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Зуева, О.С. Структурные особенности композиционного белок-полисахаридного гидрогеля в присутствии углеродного наноматериала / О.С. Зуева, А.Т. Губайдуллин, **А.О. Макарова**, Л.Р. Богданова, Л.Я. Захарова, Ю.Ф. Зуев // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2020. – N 3. – С. 581-589.

2. Богданова, Л.Р. Инкапсуляция диагностических красителей в полисахаридной матрице, модифицированной углеродными нанотрубками / Л.Р. Богданова, **А.О. Макарова**, О.С. Зуева, Л.Я. Захарова, Ю.Ф. Зуев // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2020. – N 3. – С. 590-595.

3. Gubaidullin, A.T. Modulation of molecular structure and mechanical properties of  $\kappa$ -carrageenan-gelatin hydrogel with multi-walled carbon nanotubes / A.T. Gubaidullin, **A.O. Makarova**, S.R. Derkach, N.G. Voron'ko, A.I. Kadyirov, S.A. Ziganshina, V.V. Salnikov, O.S. Zueva, Yu.F. Zuev // Polymers. – V. 14. – N. 12. – 2346.

4. Makarova, A.O. Use of natural biopolymers to create nanocomposite materials / **A.O. Makarova**, L.R. Bogdanova, O.S. Zueva // Solid State Phenomena. – 2020. – N 299. – P. 299-304.

**На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов:**

Отзыв от д.х.н., профессора, заведующего кафедрой медицинской физики Института Физики К(П)ФУ Аганова Альберта Вартановича, отзыв положительный. В отзыве отмечается, что не совсем удачно сформулирована новизна работы, а название диссертации не отражает очень важную часть работы - вопросов цитоксичности, которые достаточно подробно освещены в работе. Отмечается, что в автореферате имеются незначительные опiski и пунктуационные ошибки, которые не влияют на понимание сути изложенного и не снижают общего впечатления от проделанной работы.

Отзыв д.ф.-м.н., профессора, проректора по научной деятельности СевГУ Евстигнеева Максима Павловича, отзыв положительный, замечаний к содержанию и оформлению автореферата нет.

Отзыв от д.х.н., г.н.с. ТИБОХ им. Г.Б. Елякова РАН Ермак Ирины Михайловны, отзыв положительный. Отмечается, что кристалличность к-каррагинана не совсем явно документирована на рентгеновской дифрактограмме, поскольку отмеченная область перекрывается аморфной.

Отзыв от д.б.н., профессора, заведующего отделом биохимии животной клетки НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова Муронца Владимира Израилевича, отзыв положительный. Отмечается, что в выводы можно было бы внести более подробную информацию о включении ферментов и красителей в гидрогели.

Отзыв от к.фарм.н., в.н.с. ММБИ РАН Облучинской Екатерины Дмитриевны, отзыв положительный. В отзыве отмечается, что не вполне корректное отнесение диагностических красителей к биологически-активным веществам (БАВ), а методика определения высвобождения БАВ не соответствует ГОСТу.

Отзыв от д.т.н., профессора, декана факультета пищевых технологий, заведующего кафедрой промышленной биотехнологии КНИТУ Сироткина Александра Семеновича, отзыв положительный. Принципиальных замечаний к содержанию автореферата не имеется. Отмечаются некоторые опечатки и терминологические неточности.

Отзыв от к.ф.-м.н., с.н.с. ИХР РАН Ходова Ильи Анатольевича, отзыв положительный, сделано замечание, что в автореферате допущены опечатки, которые не затрагивают сути работы и относятся только к оформлению автореферата.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оппоненты являются высококвалифицированными специалистами в области молекулярной биофизики, структуры и физико-химических свойств белков и полисахаридов. Оппоненты имеют публикации**

в рецензируемых научных российских и зарубежных журналах, относящихся к теме диссертационной работы.

Ведущая организация является признанным учреждением, занимающимся фундаментальными и прикладными проблемами в области нанобиологии, а именно – исследованием многофункциональных и композитных биосистем с включенными наночастицами и их применением в биологии и медицине.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

*Разработана и исследована?* система на основе белок-полисахаридных гидрогелей с модифицированными физико-химическими и солюбилизационными свойствами за счет введения УНТ.

*Доказано,* что в гидрогеле к-каррагинан-желатин супрамолекулярная структура формируется даже при высокой температуре в состоянии золя, сохраняясь при понижении температуры и переходе в гелеобразное состояние. Доказано, что УНТ принципиально не меняют существующую супрамолекулярную структуру гидрогеля к-каррагинан-желатин, однако изменяют его механические, электропроводящие свойства, связывание и высвобождение биологически-активных и вспомогательных препаратов.

*Определены* пути использования полученных результатов, имеющих большое значение для решения фундаментальных задач физико-химической биологии о взаимодействиях и супрамолекулярной структуре биомакромолекул в живых системах, при разработке биотехнологических систем для использования в биомедицинских целях, в том числе в регенеративной медицине, создании лекарств и т.д.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем,** что полученные результаты вносят вклад в положения физико-химической биологии и биофизики о взаимодействии биомакромолекул и структуре их супрамолекулярных комплексов, в понимание механизмов управления физико-химическими и солюбилизационными свойствами биосистем за счет

введения синтетических нанодобавок, например, углеродных нанотрубок (УНТ).

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем,** что представленные в работе результаты имеют большое научно-практическое значение в связи со все более широким использованием гидрогелей и других белок-полисахаридных композиционных систем в современных биотехнологиях. Полученные данные по регуляции структурных и физико-химических свойств белок-полисахаридных гидрогелей в присутствии УНТ имеют большое значение при создании биосовместимых искусственных материалов для использования в биомедицинских целях – в регенеративной медицине, разработке новых лекарственных средств, в том числе пролонгированного действия и т.д.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила обоснованность полученных данных.** В экспериментальных работах корректно использованы методы рентгеноструктурного анализа, сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии, кондуктометрии, реологии, УФ и флуоресцентной спектроскопии. Выполнен контроль цитотоксичности разработанных белок-полисахаридных систем. Полученные данные обработаны статистически, а выводы обоснованы.

**Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в составлении плана исследований, проведении экспериментальной работы, в том числе подготовке экспериментального материала, обработке и интерпретации полученных результатов.** Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора и результатах, полученных совместно с к.б.н. Богдановой Л.Р. (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН), д.х.н. Губайдуллиным А.Т. (ИОФХ ФИЦ КазНЦ РАН), к.т.н. Кадыйровым А.И. (ИЭПТ ФИЦ КазНЦ РАН), д.б.н. Сальниковым В.В. (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН), к.х.н. Зиганшиной С.А. (КФТИ ФИЦ КазНЦ РАН), д.б.н. Ильинской О.Н. и к.б.н. Зеленихиным П.В (К(П)ФУ).

В ходе защиты диссертации критических замечаний не было, при обсуждении возникли следующие вопросы:

- ✓ Как располагаются УНТ в гидрогеле?
- ✓ Что представляют собой УНТ?
- ✓ Почему для анализа структуры физических гелей подходящей оказалась модель Гаусс Лоренц гель, а не модель цилиндрических частиц?
- ✓ Почему при добавлении УНТ повышается гомогенность гелевой системы? Может быть лучше было сказать, что система становится более структурированной?
- ✓ В чем заключаются механизмы токсичности исследованных систем?
- ✓ Будут ли проникать УНТ через капилляры? Учитывался ли эффект возможного тромбообразования УНТ?
- ✓ Почему в работе были использованы именно многостенные УНТ? Что заставляет УНТ связываться в геле?

Соискатель Макарова А.О. ответила на заданные в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

Биополимеры «обволакивают» УНТ, помогая дезагрегировать агломераты УНТ и максимально равномерно распределять их в полимерной матрице.

УНТ представляют собой протяженные полые цилиндрические структуры, образованные свернутым в цилиндр графеновым листом. Различают одностенные и многостенные УНТ. В данной работе были использованы многостенные УНТ, которые имеют структуру «русской матрешки», представляя собой совокупность вложенных друг в друга однослойных цилиндрических нанотрубок. Диаметр УНТ составляет 20-50 нм, а длина достигает до 2 мкм.

Для описания экспериментальных данных МУРР целесообразнее использовать модель Гаусса-Лоренца геля, имеющую четкий физический смысл для рассматриваемых систем. В рамках модели цилиндрических частиц

не удалось добиться адекватного описания экспериментальных данных, поэтому ее не использовали для моделирования структуры гидрогеля.

По дифрактограммам желатина и κ-каррагинана было показано, что добавление УНТ в гидрогель приводит к подавлению их ярко-выраженной аморфной или кристаллической природы. При объединении полисахарида и белка фаза структура образца меняется – не наблюдается кристаллизации ни одной из ранее присутствующих компонент, что указывает на факт гомогенизации системы, а присутствие УНТ вносит в этот процесс дополнительный стабилизирующий эффект. Если бы система имела четкие структурированные области и была упорядочена, то на кривой малоуглового рассеяния проявлялись бы брэгговские пики. Данный факт также качественно подтверждается нашими результатами по атомно-силовой микроскопии, когда УНТ стабилизируют надмакромолекулярную структуру, приводя к снижению величины шероховатости поверхности.

Токсичность сконструированных систем в отсутствие УНТ проявляется за счет присутствия катионов в гелевых системах. В диссертационной работе было проведено исследование инкапсулирующей способности сконструированных систем в отношении биологически активных веществ, поэтому эффект тромбообразования не учитывался.

На основании анализа литературных данных можно отметить, что многостенные УНТ являются менее токсичными по сравнению с одностенными УНТ. Также многостенные УНТ проявляют большую электропроводность, относительно одностенных УНТ. Модификация поверхности УНТ происходит за счет нековалентной функционализации, когда биополимер взаимодействует с поверхностью УНТ за счет гидрофобных взаимодействий.

На заседании 29 сентября 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Макаровой Анастасии Олеговне ученую степень кандидата биологических наук за исследования структуры и физико-химических свойств белок-полисахаридных гидрогелей, армированных

углеродными нанотрубками, которое вносят важный вклад в понимание взаимосвязи «состав-структура-свойство» белок-полисахаридных комплексов для ответа на ряд фундаментальных вопросов физико-химической биологии о взаимодействиях и супрамолекулярной структуре исследованных систем. Полученные результаты будут полезны при разработке биотехнологических композиций на основе белков и полисахаридов.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 9 докторов наук по научной специальности 1.5.2 – биофизика, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за - 14, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель  
диссертационного совета,  
д.б.н., профессор

  
Чернов Владислав Моисеевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета, к.б.н.

  
Пономарева Анастасия Анатольевна

30.09.2022 г.

