

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук по диссертации на соискание учёной степени кандидата наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 15 марта 2017 года №6

О присуждении **Шипуновой Виктории Олеговне**, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Многофункциональные надмолекулярные комплексы для контролируемого воздействия на клетки *in vitro* и *in vivo*» по специальности 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите 14 декабря 2016 года, протокол № 17 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) (117997, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10), действующим на основании приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Шипунова Виктория Олеговна, 1990 года рождения, в 2013 году окончила магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)» по направлению «Биотехнология». В 2013 г. поступила в аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. В настоящее время является аспирантом 4 г.о. Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук и работает младшим научным сотрудником в лаборатории молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель: **Сергей Михайлович Деев**, доктор биологических наук,

профессор, чл.-корр. РАН, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1. **Владимир Сергеевич Прасолов**, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией клеточных основ развития злокачественных заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта Российской академии наук;

2. **Анатолий Виталиевич Жердев**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунобиохимии Института биохимии имени А.Н. Баха, Федеральное государственное учреждение “Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук” дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования и науки “Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет Российской академии наук” (СПБАУ РАН), г. Санкт-Петербург в своём положительном заключении, подписанным заведующим лабораторией нанобиотехнологий СПБАУ РАН, академиком РАН Михаилом Владимировичем Дубиной и утверждённым проректором по учебной работе, руководителем Центра высшего образования СПБАУ РАН, д.ф.-м.н., чл.-корр. РАН Алексеем Евгеньевичем Жуковым, указала, что диссертационная работа Шипуновой Виктории Олеговны соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении учёных степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748), а её автор, Шипунова В.О., заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 17 опубликованных работ, из них по теме диссертации - 16 работ, в том числе 4 статьи объёмом 1.4 печ. л., опубликованных в научных журналах, входящих в международную базу цитирования Web of Science. Научные работы по теме диссертации, в которые автор внёс основной или существенный вклад:

1. V.O. Shipunova, M.P. Nikitin, P.I. Nikitin, S.M. Deyev. MPQ-cytometry: a magnetism-based method for quantification of nanoparticle-cell interactions// *Nanoscale*. 2016. V. 8,



pp. 12764-12772.

2. M.P. Nikitin, V.O. Shipunova, S.M. Deyev, P I. Nikitin. Biocomputing based on particle disassembly// *Nature Nanotechnology*. 2014. V. 9, pp. 716–722.

3. В.О. Шипунова, М.П. Никитин, И.В. Зелепукин, П.И. Никитин, С.М. Деев, Р.В. Петров. Комплексное исследование взаимодействия “лектин–гликопротеин” с целью разработки эффективных тераностических наноагентов// *Доклады Академии Наук*. 2015. Т. 464, с. 501-504.

4. В.О. Шипунова, М.П. Никитин, А.А. Лизунова, М.А. Ермакова, С.М. Деев, Р.В. Петров. Магнитные наночастицы с полиэтилениминовой оболочкой для модификации клеток// *Доклады Академии Наук*. 2013. Т. 452, с. 333-335.

#### **На диссертацию поступили отзывы:**

1. Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1.1. На рис. 40 диссертации (он же рис. 9 автореферата) логической функции, означающей логическое отрицание, соответствуют обозначения как «НЕТ», так и «НЕ»; 1.2. Стоило бы завершить обзор литературы заключением, которое бы выявило основные направления работы в данной области; 1.3. Следовало бы прокомментировать, каким образом задавался порог «Истина-Ложь» на графиках, представляющих результаты экспериментов по реализации логических функций; 1.4. Некоторые термины диссертации приведены без должного пояснения. Например, следовало бы пояснить, что означает термин «нелинейные магнетики».

2. Отзыв официального оппонента к.б.н., А.В. Жердева. Отзыв положительный, содержит следующие замечания, заключающиеся в следующем: 2.1. Следовало бы прокомментировать возможность применения тройных комплексов магнитная наночастица – флуорофор – рецептор и сочетания магнитной сепарации с последующей оптической детекцией; 2.2. Данные, полученные методом МРQ-цитометрии было бы полезно сопроводить величинами коэффициентов корреляции с измерениями методами проточной цитометрии и флуоресцентной спектроскопии для исследованной выборки клеточных линий; 2.3. Следовало подробнее обсудить возможность селективной доставки препаратов на основе лектин-углеводного взаимодействия с преимущественной локализацией в опухолевых тканях *in vivo*; 2.4. В диссертации отсутствует развернутое обсуждение экспериментов по выбору оптимальных условий сорбции гликопротеинов на поверхности золотых частиц; представляло бы интерес также сопоставить характеристику селективности полученных конъюгатов методом иммуно(лектино)хроматографии и литературные данные о соответствующих лектин-углеводных взаимодействиях; 2.5. Выбранный критерий для оценки порога “ИСТИНА-ЛОЖЬ” представляется приемлемым,

однако его оптимальность требует дополнительного обоснования.

3. Отзыв официального оппонента д.б.н., проф. В.С. Прасолова. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: 3.1. В списке литературы практически отсутствуют ссылки на отечественные источники; 3.2. В работе отсутствует раздел «Заключение», в котором следовало бы более подробно обсудить выводы и подвести итоги данного исследования; 3.3. Отсутствуют данные о характеристике золотых и ферригидритных наночастиц, использованных в работе; 3.4. Не во всех подписях графиков указано, что представляют собой планки погрешностей; 3.5. В тексте работы не объяснено, почему забор крови мыши для анализа проточной цитометрией осуществлялся через 8 минут после инъекции биокомпьютерных структур.

**На автореферат поступили отзывы:**

1. К.б.н., н.с. кафедры иммунологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова Евгения Сергеевича Шилова. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

2. Академика РАН, д.х.н., проф., руководителя отдела структуры и функций РНК Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова Ольги Анатольевны Донцовой. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их достижениями в молекулярной и клеточной биологии, иммунохимии, нанобиотехнологии. Стоит отметить, что сотрудниками СПБАУ РАН ведутся работы по синтезу и поверхностной модификации наноструктур различной природы и изучению их взаимодействия с живыми объектами. Научные интересы Жердева А.В. связаны с разработкой иммуносенсоров, в т.ч. с использованием наночастиц. Под руководством Прасолова В.С. ведутся работы по разработке новых средств терапевтического воздействия на злокачественные клетки. Наличие солидного опыта и высокой квалификации у оппонентов и представителей ведущей организации подтверждается большим количеством публикаций в высокоцитируемых российских и международных журналах по теме диссертации соискателя. Всё это позволяет им объективно оценить научное и практическое значение настоящей диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработан новый метод для количественной детекции взаимодействия наночастиц с клетками эукариот (MPQ-цитометрия), позволяющий с высокой чувствительностью детектировать наночастицы в оптически непрозрачных средах вне



зависимости от факторов, влияющих на оптические свойства образца; показана перспективность использования молекулярного биокомпьютинга в организме млекопитающих, что открывает широкие возможности для совершенствования таргетной терапии и развития тераностики в целом.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что разработанный в данной работе метод детекции наночастиц, связанных с клетками эукариот, использует для детекции внутренне присущие наночастицам свойства нелинейных магнетиков. Данный метод позволяет, используя нацеленные наночастицы, определять уровень экспрессии мембранных антигенов клеток, не уступая методам, использующим молекулярные распознающие агенты. Кроме того, теоретическая значимость работы обоснована тем, что разработаны фундаментальные принципы дизайна биокомпьютерных структур, которые способны выполнять логические операции, анализируя молекулярное микроокружение, как *in vitro* в культуре клеток, так и *in vivo* в живом организме млекопитающего. Результаты данной работы могут служить основой для создания терапевтических и диагностических агентов нового поколения, интеллектуально анализирующих несколько параметров биохимической информации.

Применительно к проблематике диссертации результативно, с получением обладающих новизной результатов, использованы различные методы современной молекулярной и клеточной биологии и физико-химические методы анализа свойств наночастиц, такие как динамическое и электрофоретическое светорассеяние, электронная и флуоресцентная микроскопия, проточная цитометрия, флуоресцентная спектроскопия, иммуноферментный анализ, иммунохроматография, а также методы на основе оригинальной технологии регистрации нелинейных магнетиков на комбинаторных частотах МРQ.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанный метод МРQ-цитометрии нацелен на применение как в фундаментальных исследованиях в области молекулярной биологии и нанобиотехнологии, так и на применение в клинической практике для оперативной диагностики в условиях отсутствия дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного персонала (в полевых условиях или в развивающихся странах). Результаты диссертации могут в дальнейшем найти применение в различных областях биомедицины, молекулярной и клеточной биологии и нанобиотехнологии, а именно, в разработке диагностических тест-систем для оперативной *in vitro* и *ex vivo*

диагностики, создании лекарств для персонализированной медицины, «умных» биосенсоров и биокомпьютеров.

Оценка достоверности результатов основывается на том, что они получены с использованием сертифицированного оборудования и материалов; доказана воспроизводимость результатов исследования; идеи и концепции, изложенные в диссертации, базируются на современных представлениях биологических наук. Кроме того, результаты, полученные в данной работе различными методами молекулярной и клеточной биологии, хорошо коррелируют с данными, полученными с использованием разработанного метода.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выборе направления исследований, разработке и выборе экспериментальных методов и подходов, обработке, анализе и интерпретации полученных экспериментальных данных. Основные экспериментальные данные, представленные в работе, получены соискателем лично за исключением: 1) анализа синтезированных магнитных наночастиц методами электронной микроскопии, микродифракции электронов и рентгенодифракционного анализа, выполненного в центре Центра коллективного пользования уникальным оборудованием в области нанотехнологий МФТИ (ГУ); 2) синтеза золотых наночастиц, выполненного Никитиным М.П. в лаборатории нанобиотехнологий МФТИ (ГУ). Автор лично участвовал в апробации работы на научных конференциях. Подготовка основных публикаций по выполненной работе проведена при непосредственном участии автора.

На заседании 15 марта 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Шипуновой В.О. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 27 человек, из них 8 докторов наук (специальность 03.01.03 – молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 26, против – 0, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель диссертационного совета  
Академик РАН

Иванов В.Т.

Учёный секретарь диссертационного совета  
Д. ф.-м.н.

Олейников В.А.

