

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

СТЕНОГРАММА

заседания Диссертационного совета Д 002.019.01 при ИБХ РАН
«04» декабря 2019 года

Защита диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук

Генераловой Аллы Николаевны

**по теме: Мультифункциональные полимерсодержащие дисперсные
микро- и наноструктуры для биотехнологии и биомедицины**

Специальность 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Москва 2019

СТЕНОГРАММА

заседания Диссертационного совета Д 002.019.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 04 декабря 2019 года.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор физико-математических наук

Олейников В.А.

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 10.

1.	Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2.	Член-корр. РАН	Липкин Валерий Михайлович	(03.01.06)
3.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
4.	Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
5.	Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
6.	Академик РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
7.	Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
8.	Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
9.	Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
10.	Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
11.	Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
12.	Д.б.н.	Мурашев Аркадий Николаевич	(03.01.06)
13.	Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
14.	Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
15.	Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
16.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
17.	Академик РАН	Свердлов Евгений Давидович	(03.01.03)
18.	Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(02.00.10)
19.	Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
20.	Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)
21.	Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(02.00.10)

Председатель: Доброе утро, дорогие коллеги! Есть предложение приступить к работе. Речь идет о традиционной повестке дня. Одна защита, но докторская. А также принятие к защите целого ряда диссертаций. Есть возражения? Приступаем. Речь идет о защите Генераловой Аллы Николаевны. Владимир Александрович, материалы личного дела для начала.

Ученый секретарь: Позвольте познакомить с материалами личного дела. Генералова Алла Николаевна в 1988 году окончила Московский институт тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, факультет органического синтеза и синтеза полимеров. В 2000 году защитила кандидатскую диссертацию по специальности 02.00.06 - химия высокомолекулярных соединений. С 1988 г. стажер-исследователь, с 1990 г. старший лаборант, с 1993 г. младший научный сотрудник, с 2001 г. научный сотрудник и с 2010 г. старший научный сотрудник лаборатории полимеров для биологии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. Работа выполнена в лаборатории полимеров для биологии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. По теме диссертации опубликовано 49 печатных работ в журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций. Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя 01.08.2019 г. Все необходимые документы в «деле» имеются.

Председатель: Вопросы, замечания? Обычно нет. Тогда я даю слово диссертанту. Алла Николаевна, Вам слово для доклада. Сорок минут.

Соискатель (Генералова А.Н.):

(Излагает основные положения диссертационной работы)

Председатель: У Вас все?

Соискатель (Генералова А.Н.): Да.

Председатель: Вопросы к докладчику имеются? Да, прошу.

Никитин Максим Петрович: Спасибо за интересный доклад. У меня вопрос к Вам, как к человеку, который синтезировал большое количество частиц для диагностики, таргетинга. У меня вопрос, как сделать оптимальные частицы для этого?

Соискатель (Генералова А.Н.): Для таргетинга? Для диагностики?

Никитин Максим Петрович: Больше всего меня интересуют частицы для *in vitro* диагностики и получения чувствительных систем. Для *in vivo* все намного сложнее. Как моделировать частицу, чтобы сделать ее наиболее специфичной?

Соискатель (Генералова А.Н.): Спасибо за интересный вопрос. Наверное, нельзя ответить одним предложением, все зависит от типа и вида анализа. Например, если Вы проводите латексную агглютинацию в планшете, то представленные в докладе полиакролеиновые частицы являются оптимальными: у них большая плотность, они быстро оседают в планшете, их легко окрашивать и достаточно просто модифицировать поверхность. Но это не только создание конъюгатов, но и возможность использовать спэйсерные молекулы, получение «шубы» на поверхности частиц из, например, желатина или других инертных белков. Надо конкретно, в каком анализе будут использоваться частицы. Например, если брать вариант анализа на стекле, то тут нужен диаметр меньше. В общем, нельзя дать общую рекомендацию, надо рассматривать конкретный анализ.

Председатель: Вопрос в зале.

Водовозова Елена Львовна: Спасибо большое за очень интересный доклад. Скажите, пожалуйста, какие наночастицы применяются в настоящее время на практике?

Соискатель (Генералова А.Н.): Для диагностики?

Водовозова Елена Львовна: Да

Соискатель (Генералова А.Н.): Я знаю, что для *in vivo* применения разрешены частицы на основе железа. На практике в диагностических системах наиболее часто используют золотые наночастицы. Не знаю, как в промышленном масштабе, но в лабораторной практике они активно используются, например, для создания стрип-теста, и уже, можно сказать, стали участниками рутинной технологии.

Водовозова Елена Львовна: А для диагностики *in vivo*?

Соискатель (Генералова А.Н.): А вот для *in vivo*, как раз разрешены частицы на основе железа.

Водовозова Елена Львовна: А они применяются у нас в стране на практике?

Соискатель (Генералова А.Н.): Нет, не применяются. Разрешены, но не применяются.

Председатель: Прошу.

Дзантиев Борис Борисович: Вот вы знаете, что активно применяются цветные латексы. У Вас есть работы на эту тему, но вопрос в полной мере не был отражен в докладе. Скажите, пожалуйста, что Вам удалось сделать по этой части? Именно по получению цветных латексов.

Соискатель (Генералова А.Н.): Как я уже говорила, полиакролеиновые частицы обладают высоким сродством к красителю, например, по сравнению, с полистирольными. Нами было разработано два метода: на стадии синтеза, в котором обычно использовали красители типа родамин 6 G, и после синтеза, чаще всего кристаллический фиолетовый, который давал синее окрашивание. И на слайде представлены такие окрашенные

частицы. С моей точки зрения, наиболее перспективными являются частицы, полученные в присутствии аминов и окрашенные после синтеза. Несмотря на то, что краситель не окрашивает всю частицу, а входит только в оболочку, что позволяет экономить краситель, частицы имеют интенсивный синий цвет. Главное преимущество, что частицы получают без добавления лишних «возмущающих» факторов, типа красителя, с четко заданными характеристиками, а окрашивать их уже можно после синтеза. Все анализы, приведенные в таблице на слайде, получены с участием окрашенных частиц или родамином, или кристаллическим фиолетовым. В таблице представлены результаты многолетней работы с частицами и к нам периодически обращаются за латексами для разработки тест-систем, поэтому в фоновом режиме эта работа продолжается.

Дзантиев Борис Борисович: Спасибо.

Председатель: Иссякли вопросы? Тогда отдохните. Переходим к заслушиванию отзывов. Насколько я знаю, на кандидатских сейчас время выступления руководителя, но на докторских диссертациях консультант не должен выступать. Если есть желание у научного консультанта, то он может выступить во время дискуссии. А сейчас перейдем к более формальным делам. У нас есть заключение ведущей организации, о котором нам доложит Владимир Александрович.

Ученый секретарь:

(Зачитывает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)

Ведущей организацией является Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И.Менделеева» («РХТУ им. Д.И.Менделеева»). Отзыв ведущей организации полностью положительный. Здесь пишут, что важным свойством, объединяющим микро- и наночастицы, является возможность значительно повысить эффективность биоанализа, т.к. частицы позволяют проводить исследования быстро, с высокой чувствительностью. Такие системы лежат в основе создания новых биоаналитических, диагностических, тераностических методов и позволяют решать задачи биовизуализации, доставки лекарственных препаратов, регенеративной медицины и этим обусловлена актуальность данной работы. По структуре: диссертация изложена на 247 страницах, содержит 77 рисунков, 17 таблиц и имеет классическое построение, содержит список литературы из 417 наименований. В обзоре литературы рассмотрены два перспективных направления создания дисперсных структур: на основе полимерных частиц, синтезированных методом гетерофазной полимеризации, и на основе неорганических наночастиц, т.е. две части обзора оценены положительно. Вторая глава приводит характеристики исходных веществ, применяемых в работе, и описывает методы

получения продуктов и исследование их свойств. Третья глава содержит результаты работы и их обсуждение, где представлены основные концепции и подходы к получению и применению как микроструктур на основе частиц, синтезированных методом гетерофазной полимеризации, так и наноструктур, полученных на основе неорганических частиц – нанофосфоров. В первом разделе рассмотрен простой универсальный подход к получению микрочастиц. И здесь, наверное, ключевое слово универсальность и полиакролеин, поскольку полимеры и сополимеры на его основе содержат реакционноспособные альдегидные группы, а при использовании предложенных методов синтеза существует возможность управления коллоидными и химическими свойствами частиц путем введения красителей, аминов, неорганических наночастиц, проведением реакции шивки, проводить различные методы модификации. Все это позволило разработать концепцию получения микроструктур с набором специальных свойств, необходимых для их применения в биотехнологии и биомедицине. Показана перспективность применения конъюгатов гибридных органо-неорганических микроструктур, содержащих КТ, с адресными молекулами для специфического маркирования поверхности клеток. Второй раздел – это концепция создания наноструктур на основе гидрофильных коллоидно-стабильных дисперсий апконвертирующих нанофосфоров. Здесь подчеркивается перспективность использования таких систем с эндогенным соединением витамином В2 (рибофлавином). Данные наноструктуры являются перспективными тераностическими агентами и позволяют проводить фотодинамическую терапию раковых опухолей за счет генерации активных форм кислорода при возбуждении светом из ИК-диапазона. В целом, диссертация Генераловой А.Н. производит положительное впечатление, но есть замечания: 1) При получении микрочастиц с термочувствительной флуоресценцией в работе использована затравочная полимеризация N-винилкапролактама в присутствии частиц на основе сополимера акролеина со стиролом. Из представленных данных не совсем ясно, как контролировали процесс полимеризации, чтобы избежать формирования новой фракции частиц из поли-N-винилкапролактама в объеме; 2) Из литературы известно, что для получения частиц на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ), характеризующихся продолжительным временем циркуляции в организме лабораторных животных, обычно используют ПЭГ с молекулярной массой 2-5 кДа. В работе нанофосфоры модифицировали ПЭГ с молекулярной массой 0,5 кДа. Представляется целесообразным объяснить такой выбор; 3) В работе имеются отдельные опечатки и грамматические ошибки. Однако замечания не являются принципиальными и не снижают, в целом, благоприятного впечатления от работы. Подчеркивается междисциплинарный характер исследований, а новизна и

актуальность представленных в работе данных не вызывает сомнений Автореферат диссертации соответствует содержанию работы. Несомненна и практическая значимость проведенной работы (перечислены институты, где могут использоваться результаты). На основании вышеизложенного можно заключить, что докторская диссертация Генераловой Аллы Николаевны соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии). Отзыв обсужден на заседании кафедры биоматериалов Российского химико-технологического университета им. Д.И.Менделеева и подготовлен д.х.н. Михаилом Исааковичем Штильманом. Утвержден проректором по научной работе д.х.н, доцентом Щербиной А.Н.

Председатель: Алла Николаевна, там были замечания. Желательно на них ответить.

Соискатель (Генералова А.Н.): Первое замечание, как мы получали частицы с термочувствительной оболочкой без формирования частиц в объеме. В данном случае была реализована прививочная полимеризация винилкапролактама на поверхности сополимерных частиц, которые содержали звенья с двойными связями полиакролеина. Для получения микроструктур практически без образования частиц ПВК в реакционном объеме проводили полимеризацию от поверхности частиц «grafting from». Для этого на ней создавались активные центры, от которых начиналась полимеризация, благодаря использованию нерастворимого в воде радикального инициатора азо-изобутиронитрила, который вводили в виде спиртового раствора и инкубировали в течение ночи для адсорбции инициатора частицами, а также добавляли мономер. В результате при нагревании и активации инициатора полимеризация начиналась от поверхности. В результате в объеме никакие частицы не образовывались. Что касается второго вопроса, по поводу низкомолекулярного ПЭГ, когда обычно используется ПЭГ с молекулярной массой 3-5 кДа. Прежде всего, это связано с тем, что ПЭГ обладает низкой поверхностной активностью. Он снижает поверхностное натяжение на границе вода -воздух меньше, чем на 10, против 20 мН/м, которое характерно для классических ПАВ. Поэтому на поверхности создают структуры, которые поддерживают коллоидную стабильность, типа «brush» или «mushrooms». В нашем случае мы использовали уже коллоидно-стабильные наночастицы и была задача создать только оболочку из молекул ПЭГ. Расчеты с учетом площади поверхности частиц, длины цепи и сегмента Куна молекул ПЭГ позволили

подобрать правильную концентрацию для полного покрытия поверхности цепями полиэтиленгликоля.

Председатель: Все у Вас? Спасибо. По моим данным есть отзывы на автореферат. Сейчас мы слушаем.

Ученый секретарь: Есть три отзыва на автореферат. Все три положительные. Позвольте мне их не зачитывать. Фраза из первого отзыва является определяющей: разработан универсальный подход к получению гидрофилизированных образцов нанофосфоров. Отзыв подписан руководителем Центра естественно-научных исследований Института общей физики им. А.М. Прохорова академиком РАН Коновым В.И. и зав. лабораторией «Биофотоника» к.ф.-м.н. Никитиным П.И. Второй отзыв из Инженерно-физического института биомедицины, подписанный д.ф.-м.н., старшим научным сотрудником Завестовской И.Н., тоже положительный. Третий отзыв поступил из Ставрополя, подписан д.б.н., ведущим научным сотрудником научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора Жарниковой И.В. Отзыв положительный, без замечаний.

Председатель: У нас есть все основания к заслушиванию официальных оппонентов. Академик Егоров Алексей Михайлович, химфак. МГУ.

Егоров Алексей Михайлович:

(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)

Коллеги, мы прослушали доклад и первый отзыв и поняли, что это очень «гетерофазная» работа, в которой три гигантских пласта, связанных с использованием микрочастиц, синтезом микрочастиц, неорганических частиц со своей физикой и еще не меньшая часть, связанная с биологией, медициной, а также включает все методы, которые относятся к биотехнологии. Можно сразу сказать, что диссертация отвечает всем требованиям, которые предъявляются к биотехнологическим работам. И я сразу хочу сказать, что она посвящена решению одной из фундаментальных проблем, которая плохо решается в настоящее время: проблема направленного транспорта биомолекул и не только малых (антибиотиков), но и больших молекул (белков, нуклеиновых кислот). Ну и проблемы их защиты и направленного транспорта очень актуальны. Каким образом доставить пока остается большой проблемой: теоретически понятной, но практически плохо реализуемой. Я должен сказать, что подход, реализуемый в этой работе, можно считать новым научным направлением работ, которое представляет разработку принципов получения структурированных наносистем на основе полимерных частиц и неорганических флуоресцирующих материалов, модификация поверхности новых частиц различными

полимерами, белками и лигандами для использования в различных областях медицинской биотехнологии и биомедицины. Это фактически было сказано при защите диссертации, и я буду следовать этому направлению. Я сразу перейду к обзору литературы, который занимает 78 стр. Это очень большой обзор и посвящен всем разделам диссертации, которые представлены в работе. Это хороший пример представления обзора, который является фактически дорожной картой, которая позволяет понять, где ты находишься со своими знаниями, подходами по отношению к научным достижениям в этой области. И работа написана, следуя направлениям, заданным обзором литературы. Ясно совершенно, что в работе использовано много самых различных методов и автор предлагает подходы, варьирует условия к получению частиц, отвечающих требованиям каждого отдельно взятого анализа, направленного транспорта. Экспериментальная часть очень подробно описана. Автору пришлось использовать много физических методов, особенно применительно к исследованию квантовых точек. Очень подробно и детально описаны исследования, синтез полимерных частиц в разных условиях, что позволяет понять, как были получены те или иные результаты. Важным требованием является размер частиц и этому посвящено описание различных подходов, что имеет очень важное значение. Стоит отметить, что автор старалась использовать простые и универсальные подходы, что является большим преимуществом работы. Второе, что обращает внимание, это создание гибридных органо-неорганических частиц. Получение таких частиц с фотолюминесцентными свойствами на сегодняшний день является одной из основных проблем биотехнологии, потому что стоит проблема понимания, куда и как они попадают в организм. Конечно, такую проблему можно решать с использованием генно-инженерных подходов, но эффективным является внедрение флуоресцентных компонентов, чтобы вести мониторинг за этими частицами. Это важно для разных областей биотехнологии и биомедицины, для исследования жизненных циклов бактерий, вирусов. Очень важный раздел посвящен реакции латексной агглютинации. Он не самый совершенный метод диагностики, но простой и быстрый. И хотя представляет полуколичественный анализ, но если сделать правильные частицы, с нужным размером, специфичностью, то можно проводить эффективный мониторинг в полевых условиях. Поэтому он не случайно был применен в Институте микробиологии, который определяет распространение бактерий в окружающей среде. Важное значение имеют представленные разработки конкретно для медицины, проблем онкологии и других, в которые сейчас вкладываются большие средства и связаны с визуализацией объектов, контролем за их изменением в процессе лечения и т.д. Это острая проблема, а также проблема биоимиджинга является очень актуальной, поскольку нужны удобные простые методы с

высокой чувствительностью. И если мы будем сравнивать квантовые точки с люминесцентными белками, то складывается такое мнение, что методы с использованием неорганических частиц являются более доступными, чувствительными. Кроме того, в работе решены вопросы многослойной блокировки токсичности частиц, которые все-таки чужеродны при использовании на уровне живого организма. Эта работа показывает, что полимеры - это спасение в нашей жизни и они позволяют решать самые разные проблемы в частности, биотехнологии. А если полимеры будут биodeградируемые, то удастся реализовать пролонгированное действие лекарств. Поэтому гибридные микрочастицы с неорганическими частицами имеют большое будущее для экспресс-анализов. Я думаю, что должно быть реанимировано масштабное производство латексов. Диссертация очень хорошо иллюстрирована, громадное количество рисунков, графиков очень понятных, доступно объясняющих процессы, поскольку тут и химия, и физика, и биология. Много поясняющих таблиц. Это облегчает понимание, в общем, очень сложной работы. Вместе с тем, я сделал по диссертации несколько замечаний: 1) результаты биологических исследований освещены без указания конкретных данных о свойствах антигенов, антител, типов клеток, условий проведения анализов, что не дает возможности глубже оценить достоинства разработанных частиц. Хотя, в общем, это совершенно понятно, потому что это все совместить с представлением синтезов очень сложно; 2) большое количество приведенных исследований не позволило привести данные стандартных исследований, которые играли бы роль референс исследований и контроля. Это ограничивает возможность обсуждения преимуществ тех или иных методов. Думаю, что все это будет учтено в следующих исследованиях, и, наверное, это есть в публикациях, приведенных в ссылках. Дальше я перехожу к заключительной части. Несмотря на указанные замечания, большинство результатов исследования опубликовано в отечественных и зарубежных изданиях, где эти недостатки, по-видимому, учтены. В целом работа очень хорошо иллюстрирована и написана в научном стиле.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что диссертационная работа Генераловой А.Н. является законченным исследованием, представляющим значительный вклад в создание дисперсных микро- и наноструктур для биотехнологии и биомедицины. Материалы диссертации в полной мере отражены в статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, а также были представлены на всероссийских и международных конференциях. Несомненна практическая ценность проведенной работы. Давая общую оценку диссертации Генераловой Аллы Николаевны, считаю, что по своей актуальности, научной новизне, значимости полученных результатов она соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней", а сам диссертант

заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Председатель: Спасибо, Алексей Михайлович. Алексей Михайлович уже дал ответы на свои замечания, но все же хочется услышать Ваши ответы. Алла Николаевна, прошу.

Соискатель (Генералова А.Н.): Алексей Михайлович, спасибо за замечательный отзыв. Я сделаю небольшие комментарии к указанным замечаниям. Прежде всего, указывается, что не приведены характеристики биообъектов, и это больше всего относится к таблице, приведенной на слайде о разработанных тест-системах. Действительно, по этим системам не приведено характеристик биологических объектов. Каждый из этих анализов разрабатывается по стандартной схеме: оптимизация условий получения конъюгатов, а затем постановки реакции латексной агглютинации. Однако все биологические системы имеют свои особенности, поэтому при разработке каждой тест-системы есть много тонкостей, которые необходимо указывать и это является масштабными исследованиями. Поскольку целью работы было продемонстрировать возможности применения частиц, то подробные данные о создании тест-систем и характеристика объектов не приведены в работе, чтобы «не раздувать» текст, но они даны в работах, указанных в ссылках. При представлении подробных результатов совместной работы, таких как визуализация с использованием миниантител совместно с лабораторией Сергея Михайловича Деева, цитотоксических исследований, характеристика биологических компонентов приведена в экспериментальной части. Действительно, в работе не приведено описание стандартных методов для сравнения, что связано с ограничением объема, но в работе приведены по мере возможности для сравнения минимально определяемые концентрации в стандартных методах, таких как иммуноферментный анализ. Например, в анализе для определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, для определения чумного антигена. А некоторые данные, просто, невозможно с чем-то сравнить, как в случае с *in vivo* исследованиями.

Председатель: Спасибо. Нам еще предстоит заслушать два отзыва оппонентов. Сначала Горин Дмитрий Александрович, который представляет Центр фотоники и квантовых материалов Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологий».

Горин Дмитрий Александрович:

(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)

Добрый день, дорогие коллеги. Поскольку первый оппонент подробно изложил структуру диссертации я позволю изложить неформальную точку зрения. Я хочу сказать, что мы с Аллой Николаевной познакомились в 2000-х годах в Макс-Планк институте коллоидов и границ раздела фаз, где она выполняла работы совместно с лабораторией профессора

Райнхарда Миллера. Мы работали в одном департаменте, который возглавлял Хельмут Мёвальд. Почему я это сказал? Потому что Алла уже с 2000-х годов имела доступ к современному оборудованию, методикам. Я считаю, что это сильно повлияло на уровень ее работы. Еще я хочу напомнить фразу Нобелевского лауреата Вольфганга Паули, который говорил, что объем придумал бог, а поверхность придумал дьявол. Почему он так сказал? Потому что это очень сложная система как с точки зрения теории, так и с точки зрения эксперимента. Я считаю, что основная сложная часть в работе связана с модификацией поверхности частиц различными направляющими молекулами, полимерными молекулами, поэтому мои замечания направлены на эту часть работы. Основные успехи этой работы связаны с модификацией поверхности. Это очень важно как для *in vitro*, так и для *in vivo* анализов, доставки лекарств, биовизуализации. И разрешите мне перейти к замечаниям. Первое замечание касается модификации поверхности частиц нанофосфоров молекулами полиэтиленгликоля для увеличения времени циркуляции в кровеносной системе. Как молекулярная масса полиэтиленгликоля влияет на время циркуляции частиц? Если экспериментов, направленных на оптимизацию молекулярной массы ПЭГ не проводилось, то из каких соображений был выбран ПЭГ, который был использован в работе? Второе замечание касается исследование гемосовместимости нано- и микрочастиц, которые обычно предваряют *in vivo* эксперименты. Это целый ряд протоколов, и я бы хотел узнать, проводились ли такие эксперименты и как модификация поверхности нано- и микрочастиц влияет на их гемосовместимость? Третье замечание связано с исследованиями, приведенными в работах Вольфгана Парака и других авторов, в которых определяющее значение в биораспределении частиц имеет так называемый “корона” эффект, заключающийся в адсорбции белков плазмы крови на поверхность частиц. Хотелось бы услышать комментарии автора о том, как изменится дзета-потенциал и размер частиц вследствие взаимодействия поверхности наночастиц с белками плазмы крови? Четвертое замечание связано с использованием в работе направляющих молекул, например, миниантител 4D5scFv. Исследовалась ли стабильность данных молекул на поверхности частиц *in vitro* и *in vivo*? Следующее более техническое замечание: автор дает информацию о режимах работы центрифуги в об/мин, необходимо дублировать этот параметр в г, эти данные дают возможность воспроизвести результаты, полученные автором, используя центрифуги других производителей. Шестое замечание тоже техническое: автор использует для модификации в 15 раз большую концентрацию ПЭИ (15 мг/мл), чем обычно используют в технологии последовательной адсорбции (Layer by Layer assembly), с чем связана эта необходимость? Последнее замечание: стр.114. Рисунок III.2. Почему зависимости выходят на плато? Почему наличие красителя так сильно

влияет на диаметр частиц? И замечания по оформлению работы. Хочу отметить очень высокий уровень обзора и систематизацию данных в таблицах, но было бы полезно, если были ссылки на каждый параметр, анализ в самих таблицах, чтобы было проще анализировать информацию. Молекулярная масса используемых полиэлектролитов является важнейшим параметром, определяющим многие их свойства, в связи с этим было бы полезно приводить эту информацию по тексту диссертационной работы вместе с их концентрациями в растворе и составе растворителя. Стр.101. Таблица III.15 Значение дзета-потенциала частиц приводится в следующем формате -21.42 ± 2.1 мВ, не имеет смысла оставлять числа после запятой с учетом величины абсолютной погрешности измерений, т.е. более корректным в данном случае будет следующее представление -21 ± 2 мВ. Тем не менее, указанные недостатки не снижают общий уровень работы. Хочется отметить высокий уровень журналов, в которых были опубликованы результаты работы, например, Nanoscale, Nanoresearch, RSC Advance, Colloids and Surface B, Scientific Reports, которые показывают уровень работы, актуальность и признание мировым научным сообществом. Кроме того, работа прошла апробацию на многочисленных международных и всероссийских конференциях самого высокого уровня с 1989 г. по 2018 г., что свидетельствует о высокой квалификации автора работы. Я считаю, что диссертация Генераловой Аллы Николаевны соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), а сам диссертант, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Председатель: Спасибо, Дмитрий Александрович. Была серия замечаний и вопросов. Прошу на них среагировать.

Соискатель (Генералова А.Н.): Первое замечание касается оболочки из полиэтиленгликоля и пересекается с вопросом ведущей организации. Как уже было отмечено, ПЭГ выбирали для создания оболочки на поверхности нанофосфоров и был использован ПЭГ с молекулярной массой 500. Пока оптимизацию молекулярной массы не проводили. Что касается исследования гемосовместимости, то в работе мы проводили только исследование цитотоксичности, но не проводили теста на гемосовместимость. Спасибо, это действительно очень важный тест, который в дальнейшем мы планируем использовать. Однако сейчас мы проводим исследования циркуляции модифицированных нанофосфоров в сосудах патологически измененных тканей (при воспалении) и отмечено в них ламинарное течение крови без образования областей турбулентности, которое может быть связано с тромбообразованием. Следующий вопрос касается адсорбции

белков крови, так называемой опсонизации. Мы исследовали адсорбционную способность и стабильность образцов наночастиц в биологических жидкостях. Для этого их диспергировали в разведенной сыворотке мыши и инкубировали при 37°C в течение часа. Затем образцы осаждали центрифугированием и определяли в надосадочной жидкости количество неадсорбированных сывороточных белков и, соответственно, рассчитывали количество белка в сыворотке. Зета-потенциал мы не измеряли, но измеряли размеры частиц. С увеличением концентрации ПЭГ размер частиц изменялся меньше: от 17 % без ПЭГ, при этом формировалось до 4% агрегатов, до 11% с максимальной концентрацией ПЭГ. Про использование мини-антител. В данной работе изучение стабильности одноцепочечного миниантитела 4D5scFv не проводилось, но такие исследования проводили в лаборатории С.М. Деева и пока в *in vitro* экспериментах не удалось получить стабильно работающие конъюгаты частиц с данными миниантителами, что может быть связано со стерическими затруднениями. Однако в случае использования конъюгатов миниантител, например, с молекулой барназы уже возможно получение частиц с эффективной таргетной функцией. В данной работе были получены конъюгаты сополимерных частиц M2 с этими антителами и показана возможность их использования для визуализации рецептора HER на поверхности клеток SCOV. Вероятно, в этом случае свойства поверхности, где звенья полиакролеина отделены звеньями полистирола, позволяют избежать стерических затруднений, что приводит к эффективной иммобилизации миниантител и, соответственно, повышает чувствительность анализа. Насчет очистки полностью согласна, потому что необходимо дублировать данные в об/мин, поскольку тут важную роль будет играть диаметр ротора. Почему была использована такая высокая концентрация полиэтиленimina (ПЭИ)? В данном случае мы использовали высокую концентрацию ПЭИ поскольку роль ПЭИ заключалась не только в модификации поверхности, но и ее гидрофиллизации при переводе наночастиц из органического растворителя в воду. В этом случае часть аминокислотных групп координируется около ионов металла на поверхности наночастиц, что снижает концентрацию аминокислотных групп, экспонированных в водную среду, и соответственно, зета-потенциал и, в конечном итоге, коллоидную стабильность наночастиц. Поэтому мы брали заведомо большую концентрацию ПЭИ. И последний вопрос. При проведении полимеризации обычно кривая «выход полимера - время» имеют характерную S-образную форму, на которой можно отметить участки, соответствующие стадиям формирования частиц, продолжительный стационарный участок с постоянной скоростью полимеризации, и заключительной стадией полимеризации, при которой наблюдается уменьшение скорости процесса, связанное со снижением концентрации мономера и реакциями ограничения

цепи. В случае полимеризации акролеина практически отсутствует первый участок, что связано с высокой реакционной способностью акролеина, а третий участок соответствует помимо исчерпания мономера и частичному формированию стабильных олигомерных продуктов, которые не агрегируют с образованием частиц. Значительное влияние красителя на размер частиц связано с присутствием катионов красителя, которые снижают коллоидную стабильность (дестабилизируют) формирующихся частиц полиакролеина, что приводит к их агрегации, и соответственно, к увеличению диаметра. Со всеми замечаниями по оформлению работы согласна.

Председатель: Спасибо. Третий оппонент Сергей Николаевич Кочетков, представленный в диссертации, как член-корреспондент, теперь является академиком РАН. Он участвует в другом мероприятии и не смог прийти, поэтому отзыв зачитает Владимир Александрович Олейников.

Ученый секретарь:

(Отзыв оппонента зачитывает Ученый секретарь. Отзыв прилагается. Отзыв положительный)

Отзыв теперь академика, но был написан еще член-корреспондентом Кочетковым Сергеем Николаевичем, сугубо положительный. Он пишет, что диссертационная работа Генераловой А.Н. является междисциплинарным исследованием и посвящена разработке основных концепций получения и применения дисперсных микро и наноструктур для решения задач биотехнологии и биомедицины. Далее обосновывается актуальность, новизна, перспективность применения полимерных частиц. Вот важное положение, что в работе Генераловой А.Н. решается актуальная задача создания коллоидно-стабильных гидрофилизированных образцов наночастиц с антистоксовой флуоресценцией методом замены растворителя, проводимого без использования агрессивных реагентов. Этот подход лег в основу получения полимер-модифицированных наноструктур, которые выступали в качестве биореагентов как в *in vitro*, так и в *in vivo* исследованиях, а также позволили решать задачи тераностики. Далее подчеркивается, что представлена традиционная схема изложения материала, описывается первый раздел. Я не буду подробно останавливаться на этом, поскольку Алексей Михайлович сделал очень подробный анализ по разделам. Далее говорится, что изложение и обсуждение результатов представлено в третьей главе «Результаты и их обсуждение». Там тоже идет речь о дисперсиях, частицах и т.д. Если позволите, то я сразу перейду к общим замечаниям по диссертационной работе. Первое, в работе рассматриваются способы получения микрочастиц на основе акролеина, наполненных органическими красителями и неорганическими нанокристаллами (квантовыми точками), но не приведен сравнительный

анализ их преимуществ и недостатков. Второе, для проведения реакции латексной агглютинации со спектрофотометрической детекцией результатов были получены конъюгаты частиц с антителами при участии спейсерной молекулы, в частности, аминокaproновой кислоты. Использовали ли данный подход получения конъюгатов через спейсерные молекулы в других видах анализа и имели они какие-либо преимущества? Третье, в диссертации показаны уникальные свойства и несомненные преимущества применения нанофосфоров в *in vivo* исследованиях. Однако для представления более полной картины, желательно, чтобы были приведены данные по накоплению нанофосфоров в органах ретикуло-эндотелиальной системы. В работе не нашел отражение вопрос о собственной токсичности флавинмононуклеотида при отсутствии облучения в сравнении с традиционными фотосенсибилизаторами. Однако данные недостатки являются не принципиальными и не снижают благоприятного впечатления от работы. В целом, результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями в области нанобиотехнологии, которые определяют методологию получения и применения дисперсных микро- и наноструктур для биомедицинских исследований. Положения диссертации, выносимые на защиту, в полной мере изложены в статьях в рецензируемых научных журналах, а также были представлены на многочисленных конференциях, симпозиумах, рабочих совещаниях. По актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, практической значимости диссертационная работа Генераловой А.Н. соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (перечисляются документы), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии). Подписано Кочетковым Сергеем Николаевичем. Все.

Председатель: Спасибо. Мы должны заслушать ответы Аллы Николаевны.

Соискатель (Генералова А.Н.): Первый вопрос касается частиц, наполненных органическими красителями и неорганическими метками. Нельзя говорить о безоговорочном преимуществе какого-либо типа частиц. Каждый имеет ряд преимуществ и недостатков. Получение окрашенных полиакролеиновых частиц является относительно простой процедурой и краситель может быть введен как на стадии синтеза, так и после. Однако в некоторых случаях краситель может влиять на свойства поверхности частиц, например, зета-потенциал, что в свою очередь, может приводить к потере коллоидной стабильности. Одной из проблем является дрейф красителя при хранении. Введение неорганических частиц является более сложной процедурой, но НЧ эффективно внедряются в полимерную матрицу, дают интенсивный флуоресцентный сигнал и не

диффундируют в дисперсионную среду, но не изменяют коллоидные свойства системы. Нанокристаллы могут быть введены в гидрофобные частицы, такие как полистирольные, а также использоваться для мультиплексного кодирования, при котором частицы могут возбуждаться одним источником и давать флуоресценцию разных цветов. Второй вопрос связан с использованием в других конъюгатах спейсерных молекул. В спектрофотометрическом анализе получали конъюгаты с использованием спейсерной молекулы, поскольку частицы имели малый диаметр (около 150 нм) и стерические затруднения осложняют иммобилизацию высокой концентрации антител на поверхности. Спейсерная молекула позволяет как повысить нагрузку антител, так и отдалить антитела от поверхности частиц для повышения эффективности реакции с антигеном. Мы использовали спейсерные молекулы и для получения других конъюгатов, но значительного эффекта не наблюдали. Следующий вопрос касается распределения частиц по органам. В работе это не приведено, но были проведены такие исследования. При внутривенном введении частицы накапливались, в общем, по стандартной схеме - наибольшее количество обнаружено в печени, частицы были обнаружены в селезенке и легких, слабый сигнал был отмечен в почках. И был вопрос о темновой токсичности флавинмононуклеотида. Фототоксичность ФМН была изучена с использованием колориметрического анализа МТТ и с использованием цитофлуориметра на линиях клеток меланомы А375, MEL 1L, MEL MTP и кератиноцитах HaCat. Проверляли токсичность ФМН в темноте при концентрациях до 5 мМ. Торможения роста клеток обнаружено не было. Важно отметить, что темновая токсичность коммерчески доступных агентов ФДТ часто достигают микромолярных концентраций, например, значения IC50 фотофрина (порфимера натрия) и темпорфина для клеток эпидермоидной карциномы человека А431 составляет 5 мкМ и 8 мкМ, соответственно. С другой стороны, облучение клеток, инкубированных с ФМН, приводило к их гибели в зависимости от концентрации и дозы. Все.

Председатель: Спасибо. Мы заслушали все официальные отзывы и ответы на все имеющиеся в них замечания. Теперь переходим к общей дискуссии. Кто хотел бы поделиться своими соображениями. Да, прошу Виталий Павлович.

Зубов Виталий Павлович: Уважаемые коллеги, я очень благодарен Вадиму Тихоновичу, что он перенес выступление консультанта в дискуссию, потому что есть уникальная возможность сказать несколько слов и о работе, и о соискателе, что обычно несовместимо. Очень кратко скажу о работе, вдаваться в подробности здесь, как-то не совсем корректно. Мне кажется, что эта работа, выполненная в лаборатории полимеров для биологии, демонстрирует как раз роль материаловедения, роль материалов для решения целевым

образом биомедицинских задач. Практически, здесь была создана некая платформа партикулярных матриц-реагентов для решения широкого круга задач в данных областях, и она приглашает к сотрудничеству, что и было сделано, пригласив ряд лабораторий нашего института, институты из других городов, в частности, противочумную станцию в Ставрополе. И мне кажется, что приглашения на этом не заканчиваются, а, может быть, только начинаются, и мы надеемся на их продолжение. Теперь о самом соискателе, Алле Николаевне Генераловой. Это исключительно серьезный и преданный науке исследователь, который очень большой трудоголик и обладает способностью контакта с разными людьми за что ее уважают от мала, студентов младших курсов, до велика, людей моего возраста и возраста посередине. Это, конечно, не требование ВАК, но, когда оно сочетается с высоким научным потенциалом, то на мой взгляд, это еще один аргумент, чтобы поддержать эту работу. Спасибо.

Председатель: Спасибо. Кто-нибудь еще хотел бы выступить?

Дзантиев Борис Борисович: Добрый день, коллеги. На мой взгляд, мы заслушали очень интересную работу, огромную по объему и времени выполнения. И если вы посмотрите на первые публикации, то они относятся к 90-м годам, и работа продолжалась более 30 лет. Работа начиналась с такой классики применения латексов, как латекс-агглютинация, торможение, до совершенно современных подходов, связанных с тераностикой и использованием полимеров для создания правильных наночастиц для медицины и нанотехнологии. Знаете, область очень конкурентная. Все, кто работает в этой области знают, что есть очень много латексных препаратов, квантовых точек, но, когда вы начинаете работать с импортными препаратами, вы знаете о них только то, что вам хочет сказать продавец, даже не разработчик. Это значительно затрудняет эту работу. Когда препараты создает автор и он знает о них все, то это существенно упрощает дальнейшую работу биоаналитика, потому что строчка в статье «латексы получены таким-то методом», «латексы куплены там-то» очень мало о чем говорит. А дальше идет масса нюансов: как покрыто, сколько там активных групп, сколько молекул антител или другого белка туда может быть пришито. А отсюда зависит все дальнейшее: и чувствительность методов, и воспроизводимость и т.д.. В этом плане работа, на мой взгляд, абсолютно профессиональная и дает возможность использовать эти результаты в самых разных областях. Вы знаете, что в начале 2000-х была большая программа по биобезопасности и в разных институтах изучалось, какие наночастицы, где и как накапливаются, токсичны или нет. И были большие нарекания к квантовым точкам и то, что сейчас удалось разработать подходы с использованием полимерного покрытия, которые позволили их использовать, как эффективные реагенты для биоимиджинга и биомедицины, является и одной из заслуг

данной работы. Мне кажется, что эта работа, несомненно, докторского уровня и хорошего докторского уровня. Я буду голосовать за нее и думаю, что совет поступит правильно, если ее поддержит. Спасибо.

Председатель: Спасибо. Мы учтем Ваше мнение. Кто-нибудь еще?

Овчинникова Татьяна Владимировна: Уважаемые коллеги, после детального анализа, который провели здесь Алексей Михайлович, Борис Борисович и Дмитрий Александрович и письменного детального отзыва Сергея Николаевича, конечно, по научной стороне этой работы мало, что можно добавить. Я хотела бы здесь подчеркнуть, что эта работа проводилась в рамках уникального направления, которое возглавляет в нашем Институте Виталий Павлович Зубов. Когда в начале 80-х годов Виталий Павлович принял предложение Юрия Анатольевича о создании в нашем Институте лаборатории полимеров для биологии, вероятно, даже учитывая самые оптимистичные взгляды химиков, работающих в области высокомолекулярных соединений, на прогноз развития в данной области для решения задач биологии, никто не мог даже предположить, какие докторские диссертации, с каким объемом исследований, с какими перспективами практического применения будут докладываться через некоторое время, в том числе на нашем диссертационном совете. Это большая, интересная, междисциплинарная работа, которая направлена на разработку универсальных подходов для создания биофункционализированных микро- и наночастиц для биоимджинга, таргетной доставки, терапии, для различных видов биоанализа. Эта работа огромна по объему, и одно то, что по материалам исследований опубликовано 49 работ, в том числе, в таких рейтинговых журналах, как Scientific Reports, Nanoscale, Biosensor&Bioelectronics, NanoResearch и многих других, говорит о том, что это очень достойная работа. Конечно, я буду голосовать «за» и призываю всех членов диссертационного совета поддержать эту работу. Спасибо.

Председатель: Спасибо. Есть еще желающие? Прошу.

Хайдуков Евгений Валерьевич: Здравствуйте, дорогие коллеги. Мне посчастливилось работать и взаимодействовать достаточно длительное время с Аллой Николаевной и, наверное, я, как никто другой, хорошо понимаю результаты работы, их значимость и важность. Иногда даже сложно разделить наше взаимодействие. Вот Алла Николаевна, она сделала, на мой взгляд, очень важную вещь, которая не является критерием ВАКа, - она продемонстрировала, что является частью системы и продолжателем научной школы. Мы сегодня уже видим результат ее работы, который связан с подготовкой будущих специалистов. Если мне не изменяет память, то на сегодняшний день она руководит уже двумя аспирантами, которые делают кандидатские работы. Кроме того, на ее работу

завязана большая часть коллектива, которая выполняет и медицинские исследования, и биологические исследования. И, на самом деле, часть вопросов, которые здесь возникали, она очень деликатно не включила в диссертацию, чтобы «не затоптать дорогу», идущим за ней, потому что в общем виде сделана колоссальная работа по изучению свойств фотосенсибилизаторов, и по изучению биораспределения наночастиц. На сегодняшний день мы прекрасно понимаем, как этим управлять, то, что она не показала в своей работе, хотя это даже есть в опубликованных работах, но тем не менее она это деликатно убрала из своей диссертации. Видимо по тем причинам, о которых я сказал. Еще раз спасибо, Алла Николаевна, за наше взаимодействие, большой труд и я бы просил диссертационный совет поддержать эту работу.

Председатель: Спасибо. Еще Владимир Александрович хочет выступить.

Ученый секретарь: Да, если можно, то я тоже скажу несколько слов. Во-первых, я очень внимательно и давно слежу за работой, публикациями Аллы Николаевны. И вот все начиналось где-то в 90-х годах и тогда она занималась агглютинацией, латексами, но потом появились в начале 2000-х квантовые точки, и она резко сменила направленность своей работы. Она открыта к новому и сразу стала заниматься новым направлением. Появились первые результаты и какая-то эйфория по поводу квантовых точек, что они имеют такие замечательные наноструктуры и они заменят все органические флуоресцентные молекулы и будет огромный скачок вперед. Но, опять же, это направление споткнулось на то, что поверхностная химия - это не то, что объемная химия. И вот появился целый пласт проблем, которые необходимо было решать. И вот Алла Николаевна внесла большой вклад в решение этих проблем в своих работах, в которые она вложила свой талант, свои успехи, свои достижения. Здесь я хочу сказать, что это обуславливает один из главных атрибутов докторской диссертации: создано новое направление, которое можно охарактеризовать, как создание поверхностной химии наноструктур и микроструктур, потому что созданы универсальные методы по сольбилизации, функционализации вот таких структур, причем это широкая область. Если все начиналось с квантовых точек, то потом перешло на нанофосфоры, а, на мой взгляд, есть много наночастиц, имеющих большой потенциал для использования в наномедицине. Это углеродные наночастицы, графеновые наночастицы, кремниевые наночастицы и др. Я думаю, что методы, предложенные в данной диссертации, могут быть приложены и для модификации этих частиц. Это первая сторона, и вторая сторона - это большой практический вклад, хотя, который, может быть, еще не вышел на какие-то медицинские приложения, но это огромный потенциал, особенно систем с рибофлавином, о которых мы сегодня слышали, возбуждаемые светом из ближнего ИК-диапазона и

которые позволяют глубоко в биоткани доставить энергию. "Глубоко относится к оптическим системам, т.е. свет плохо проникает и только ИК-диапазон имеет гораздо больший потенциал. Я хочу подчеркнуть, что здесь есть атрибуты работы докторской степени, что есть большие достижения. Работа мне очень понравилась и доклад был сделан прекрасно. Спасибо, Алла Николаевна. Я призываю диссертационный совет голосовать за присуждение искомой степени.

Председатель: Спасибо. Есть еще желающие выступить. У нас довольно активная дискуссия. Пожалуйста, Александр Габирович.

Габиров Александр Габирович: Очень рад, что Алла выступила здесь с докторской диссертацией, хотя это совсем не моя область, но я ее понимаю. Я считаю, что это тот человек, который может взять и поддержать то направление, которое развивал профессор Зубов В.П. Очень надеюсь, здесь я выступаю, как ученый и как директор, что Алла не только закрепит те успехи, о которых мы сегодня здесь слышали, но и поднимет эту область на следующую ступень, потому что Институт заинтересован в очень высокорейтинговых статьях. Простите за агитационные моменты на диссертационном совете. Мы находимся в первой категории, сейчас будем переходить в высшую категорию и нас будут оценивать только по высокорейтинговым статьям. Я думаю, что Алла по тому, что она сделала, действительно, интересное такое комбинированное исследование, перефразируя академика А.М. Егорова, тем более это ниша, которая печатается в журналах ACS Nano, Nature Nano и т.д. Я думаю, что лаборатория под ее руководством сможет добиться этих целей. Я благодарю всех и призываю голосовать «за».

Председатель: Спасибо. Процедура защиты предполагает, что дискуссию завершает соискатель. Алла Николаевна, Вам заключительное слово.

Соискатель (Генералова А.Н.): Прежде всего я хочу поблагодарить оппонентов за то, что они изучили мою работу, подготовили замечательные отзывы и выступили на совете. Также я хочу поблагодарить членов диссертационного совета за рассмотрение и организацию защиты моей диссертации. Данная диссертационная работа представляет результат коллективного труда, и я хочу поблагодарить всех, кто в ней принимал участие. Прежде всего, искренне благодарю научного консультанта проф., д.х.н. Зубова В.П. за многолетнее плодотворное руководство данной работой. Выражаю глубокую благодарность Ученому секретарю ИБХ РАН, д. физ.-мат. н. Олейникову В.А. за организацию исследований, связанных с квантовыми точками, а также за большую помощь в процессе подготовки диссертации. Искренне благодарю руководителя лаборатории молекулярной иммунологии (ИБХ РАН) академика РАН Деева С.М. за поддержку, обсуждение и помощь в реализации текущих и перспективных проблем и

вопросов. Выражаю искреннюю признательность всем сотрудникам данной лаборатории, и прежде всего, Здобновой Т.А и Гребеник Е.А. за эксперименты на клеточных культурах с использованием наночастиц, Мироновой К.Е. за принципиально важные клеточные работы при разработке фотодинамической терапии с участием апконвертирующих нанофосфоров. Особую благодарность за неоценимую помощь в выполнении работы выражаю руководителю лаборатории лазерной биомедицины, ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН Хайдукову Е.В., благодаря энергии и настойчивости которого исследования, связанные с апконвертирующими нанофосфорами, вышли на принципиально новый уровень. Благодарю зам. директора Соколова В.И. и выражаю искреннюю признательность всем сотрудникам ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, которые принимали самое активное участие в работе: Семчишену В.А., чьи научные исследования позволили разработать эпилюминесцентную систему и разработать подходы к ФДТ при участии рибофлавина, Рочевой В.В., Савельеву А.Г., Ашарчуку И.М., Хайдукову К.В. за эксперименты по биовизуализации, Григорьеву Ю.В. за электронную микроскопию образцов, Каримову Д.Н. за характеристику кристаллической структуры, Молчановой С.И. за решение административных вопросов. Большая благодарность Нечаеву А.В. (МИТХТ) за синтез нанофосфоров с уникальными характеристиками. Отдельная благодарность Акасову Р.А. (ИБХ РАН) и сотрудникам РОНЦ им. Н.Н.Блохина Хоченкову Д.А., Шолиной Н.В. за эксперименты на клеточных культурах и животных. Выражаю глубокую признательность Звягину А.В., который, будучи сотрудником Университета Маккуори (Австралия), инициировал тему, связанную с апконвертирующими нанофосфорами в ИБХ, а также сердечно благодарю сотрудников этого Университета: Гуллер А.В. за поддержку и неоценимую помощь в исследовании цитотоксических свойств нанофосфоров и Nadort А.-М. за помощь в изучении их оптических характеристик. Невозможно не упомянуть большой вклад в работу Сизовой С.В (ИБХ РАН), которая начинала работы с квантовыми точками и разработала первые методики по их модификации. Хочу выразить благодарность всем студентам и аспирантам, принимавшим участие в представленных исследованиях, в особенности Сочилиной А.В. и Деминой П.А. Благодарю своих учителей Грицкову И.А. (зам. зав. кафедры высокомолекулярных соединений, МИТХТ), заложившей базис, который позволил реализовать данную работу, а также Лукина Ю.В. (ИБХ РАН), Авдеева Д.М. (МИТХТ) с которыми были начаты работы по синтезу дисперсий полиакролеиновых частиц. Благодарю всех настоящих и бывших сотрудников лаборатории полимеров для биологии за многолетнее плодотворное сотрудничество, позволившее выполнить представленную работу: Капустина Д.В., Вихрова А.А., Простякову А.И., Жигис Л.С.,

Зуеву В.С., Решетова П.Д., Марквичеву Е.А., Разгуляеву О.А., Ягудаеву Е., Селину О.Е., Бурякова А.Н., Зайцева С.Ю., Горохову И.В., Иванова А.Е., Венер Т.И. Сердечно благодарю своих родных и близких, поддерживавших меня при выполнении этой работы.

Председатель: Все? Спасибо. Мы должны уже переходить к голосованию. Для этого нам надо выбрать счетную комиссию. Традиционно мне подготовили предложение, и я оглашу список без регалий, имен и отчеств: Шпаковский, Шапаронов и Олейников. Есть ли другие предложения? Отводы, самоотводы? Не вижу. Прошу голосовать за предложенный состав комиссии. Принято. Я хотел бы решить еще один вопрос. После голосования нам предстоит голосовать за проект заключения диссертационного совета. Есть ли какие-либо замечания по поводу заключения? Нет? То есть мы готовы голосовать за данное заключение. Объявляю короткий перерыв на голосование по диссертации. Но не расходимся, нам надо еще принять диссертации к защите.

(Проходит тайное голосование)

Председатель: Остается заслушать итоги счетной комиссии.

Ученый секретарь: Результаты счетной комиссия по защите диссертации Генераловой Аллы Николаевны. При рассмотрении диссертации присутствовал 21 член совета, роздано бюллетеней 21, в урне оказалось 21. Результаты: «за» - 20, «против» - нет, «недействительный» - 1.

Председатель: Прошу утвердить итоги голосования. Утвердили. Поздравляем с успешной защитой.

(Проходит голосование по проекту заключения диссертационного совета. Проект заключения принимается единогласно.)

Председатель
Диссертационного совета



академик РАН, д.х.н. Иванов В.Т.

Ученый секретарь
Диссертационного совета

д.физ.-мат.н. Олейников В.А.