

УТВЕРЖДАЮ

Директор государственного
учреждения «РНПЦ
трансфузиологии и медицинских
биотехнологий»



Ф.Н. Карпенко

« 16 » июня 2023 г.

ОТЗЫВ

оппонирующей организации

на диссертационную работу Пустюльги Егора Сергеевича на тему «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G», представленной для защиты в Совет по защите диссертаций Д 01.21.01 при государственном научном учреждении «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси» на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Актуальность темы диссертации

Выбор темы исследования обусловлен необходимостью разработки новых методов и средств для регулирования активности гуморального иммунитета и концентрации реактивных антител с использованием биоспецифических гемосорбентов. Специфическая гемосорбция, предполагающая извлечение из крови пациента определенных молекул, в частности иммуноглобулина G и подклассов предназначена для применения широкого круга аутоиммунных заболеваний является признанной альтернативной плазмаферезу. Основные производители гемосорбентов в мире – Япония, Германия, Швеция, США. Известна Японская компания АСАХИ МЕДИКЛ, которая производит сорбционные материалы для медицинского назначения, основанные на иммобилизации триптофана и фенилаланина. В Республике Беларусь производится гемосорбент, активным лигандом которого является ароматическая аминокислота триптофан, которая обладает некоторой небольшой способностью взаимодействовать с Fc-фрагментом иммуноглобулина G, однако разработка новых матриц и различных лигандов, оценка их сорбционной способности и селективности к иммуноглобулину G и его подклассов является актуальной проблемой, решение которой позволит внедрить в практическое здравоохранение новые эффективные биоспецифические сорбционные изделия медицинского

назначения. Данная диссертационная работа посвящена исследованию возможности создания новых эффективных сорбционных материалов, основанных на синтезированных ди- и трипептидах в качестве лигандов, иммобилизованных в матрицу на основе модифицированного полиэтилена, предназначенных для связывания иммуноглобулина G и его подклассов из биологических жидкостей.

Изложенное позволяет заключить, что тема диссертационного исследования, выбранная автором, является актуальной. Цель и задачи сформулированы последовательно и чётко, имеют научное обоснование, отличаются высоким уровнем новизны.

Степень новизны результатов, научных положений, выносимых на защиту

Рассматриваемая диссертационная работа является оригинальным научным исследованием, проведение которого позволило получить целый ряд новых данных, полученных впервые.

Положения, выносимые на защиту, и основные полученные результаты исследования обладают достаточной степенью новизны и практической значимости.

В результате проведенных исследований автором:

- на основе результатов молекулярного моделирования определены перспективные лиганды: Phe-Trp-DTyr, Trp-Phe-DTyr, а также олигопептиды формулы Phe-Xaa-Tyr, в которых Xaa – аминокислота Ala, Asn, Asp, Gln, Gly с высоким сродством к Fc-фрагментам различных подклассов IgG;
- разработаны оригинальные схемы и проведен синтез новых пептидов Phe-Trp-DTyr, Trp-Phe-DTyr, трипептидов общей формулы Phe-Xaa-Tyr-OMe, в которых Xaa – аминокислота Ala, Asn, Asp(OBzl), Gln, Gly, а также дипептидов Phe-DTyr, Trp-DTyr, с высоким выходом 64-94%;
- на основе аминокислот, а также ди- и трипептидных лигандов с использованием модифицированных полиэтиленовых матриц получены экспериментальные образцы сорбентов;
- экспериментальные образцы сорбентов на основе ди и трипептидных лигандов показали высокую селективность к общему IgG (от 60,34 до 75,94%), достаточно низкую селективность к IgM (в пределах от 6 до 20%), низкую - к IgE (в пределах от 3 до 24%) и низкую неспецифическую связывающую способность к общему белку (от 6,07 до 11,42%) и альбумину (от 1,87 до 10,43%) .
- показано, что, синтезированные экспериментальные образцы имеют различную селективность к подклассам иммуноглобулина G. Так, к IgG1 имеет наиболее высокую селективность образец на основе Phe-Gln-Tyr-OMe (86,53%), к IgG2 имеют селективность образцы на основе Phe-Ala-Tyr-OMe, Phe-Asn-Tyr-OMe и Trp-Phe-DTyr (60,20%, 46,79% и 55,06%, соответственно), к IgG3 – образцы на основе Phe-Trp-DTyr и Phe-Gln-Tyr-OMe (59,52% и

58,47%, соответственно), к IgG4 – образцы на основе Phe-Trp-DTyr и Phe-Asp(OBzl)-Tyr-OMe (55,05% и 42,9%, соответственно).

Научная, практическая и экономическая значимость результатов диссертации

Диссертационная работа Пустюльги Е.С. направлена на решение задачи возможности создания новых биоспецифических сорбентов, обладающих высокой емкостью относительно иммуноглобулина G и его подклассов. Полученные результаты синтеза и оценки основных целевых свойств полученных образцов позволят в дальнейшем получить промышленные серии изделий для клинического использования.

Научно-обоснованные методы поиска лигандов, заключающиеся в комплексном применении молекулярного моделирования и химического синтеза, могут использоваться для дальнейших исследований и подбора различных соединений, обладающих высокой активностью к различным классам иммуноглобулина и другим белкам.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Анализируемая диссертационная работа базируется на достаточном количестве анализируемого материала. Высокий методический уровень научной работы, современный и высокоинформативный характер проведенных исследований свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Полнота опубликования основных положений и результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 4 статьи в научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (2,0 авторских листа), 5 статей в сборниках конференций и тезисы 5 докладов в материалах конференций. Результаты работы защищены 1 патентом Республики Беларусь. Общий объем опубликованных материалов – 3,3 авторских листа.

По результатам диссертационного исследования получен патент на изобретение «Аффинный сорбент для избирательного связывания иммуноглобулинов класса G человека», BY 23532, опубл. 30.10.2021.

Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и отрасли науки

По формулировке цели, задач, положений, выносимых на защиту, используемой методологии исследования, рассматриваемая диссертационная работа Пустюльги Е.С. на соискание учёной степени кандидата химических наук соответствует специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени кандидата химических наук

Диссертация Пустюльги Е.С. на тему «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G» является завершённой, самостоятельно выполненной научной работой, вносящей в совокупности весомый вклад в развитие сорбционных технологий.

Для достижения поставленной в диссертационной работе цели автором самостоятельно выполнены научные исследования, требующие высокой научной и профессиональной подготовки. Исследование выполнено на достаточном количестве материала. В диссертации грамотно применены современные методы синтеза, лабораторных исследований и анализа результатов. Диссертационная работа Пустюльги Е.С. свидетельствует о том, что соискатель умеет правильно планировать и выполнять научные исследования, глубоко анализировать самостоятельно полученные данные, а также сведения литературы, формулировать обоснованные выводы и заключения, грамотно и логично излагать свои мысли.

Анализ представленных диссертационной работы и автореферата, методического уровня её планирования и выполнения, а также личностных и деловых качеств соискателя, позволяет говорить о том, что Пустюльга Е.С. соответствует квалификационным требованиям, предъявляемым к соискателю учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Оценка оформления работы

Диссертация изложена на 127 страницах и состоит из перечня сокращений и условных обозначений, введения, общей характеристики работы, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, библиографического списка (включающего 114 процитированные работы и 15 публикаций соискателя) и 3 приложений. Работа содержит 17 таблиц, 4 схемы и 27 рисунков. Представленный автореферат отражает содержание диссертации и основные положения, выносимые на защиту.

Оформление диссертационной работы и автореферата полностью соответствует требованиям, представленным в «Инструкции о порядке оформления квалификационной научной работы (диссертации) на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук, автореферата и публикаций по теме диссертации», утвержденной постановлением Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 28 февраля 2014 г. № 3.

Замечания по работе

1. Желательно более детально конкретизировать рекомендации по практическому использованию результатов диссертационного исследования.
2. Не указаны использованные методы статистического анализа.

Отмеченные замечания не носят принципиального характера, не умаляют значимости выполненной диссертационной работы и не влияют на ее общую положительную оценку.

Заключение

Диссертация Пустюльги Егора Сергеевича на тему «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G» является завершенным, самостоятельно выполненным научным исследованием, содержащим научные результаты, соответствующие критериям новизны, научной и практической значимости. По объему, актуальности темы, научной новизне, уровню выполнения и значимости полученных результатов работа отвечает требованиям, установленным п.20 «Положения о присуждении ученых степеней и ученых званий в Республике Беларусь» и может быть рекомендована к защите. Ее автор – Пустюльга Егор Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия за:

- научно обоснованную модель FcγRI-Fc (IgG) скрининга и проведение молекулярного моделирования пептидных последовательностей для дальнейшего использования в качестве лигандов при разработке сорбционных материалов, специфичных к иммуноглобулину G и его подклассам;

- разработку оригинальных схем и проведение синтеза пептидов Phe-Trp-DTyr, Trp-Phe-DTyr, трипептидов общей формулы Phe-Xaa-Tyr-OMe, в которых Xaa – аминокислота Ala, Asn, Asp(OBzl), Gln, Gly, а также дипептидов Phe-DTyr, Trp-DTyr, с высоким целевым выходом;

- разработку методов получения экспериментальных образцов сорбентов на основе модифицированных полиэтиленовых матриц и аминокислот, ди- и трипептидов в качестве лигандов;

- доказательство высокой селективности и сорбционной емкости к общему IgG синтезированного сорбента на основе трипептида Phe-Trp-DTyr, имеющего при этом низкую селективность к IgM и IgE, а также низкую неспецифическую связывающую способность к общему белку и альбумину;

экспериментально доказанные данные о селективности экспериментальных образцов синтезированных сорбентов к подклассам иммуноглобулина G;

Диссертационная работа может быть рекомендована к представлению в специализированный совет по защите диссертаций Д.01.21.01 для проведения публичной защиты.

Отзыв рассмотрен на научном собрании (расширенном заседании Ученого совета) государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», проведенном 12 июня 2023 года (протокол №4) на основании приказа директора учреждения №32 от 07.06.2023 года, с участием сотрудников ГНУ «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси».

Всего на заседании присутствовало 20 человек. Докторов медицинских наук – 3, кандидатов медицинских наук – 5, кандидатов биологических наук – 5, кандидатов химических наук – 2.

СЛУШАЛИ: Директора РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, к.м.н. Карпенко Ф.Н., который поблагодарил за присутствие всех собравшихся и предоставил слово Пустюльге Егору Сергеевичу.

СЛУШАЛИ: Соискателя ученой степени кандидата химических наук Пустюльгу Е.С., который в отведенное время (20 мин) изложил основные задачи, положения, результаты и выводы диссертационной работы «Моделирование олигопептидных лигандов, синтез и создание на их основе новых биоспецифических сорбентов для связывания иммуноглобулинов класса G».

По теме диссертации было задано 20 вопросов, на которые Пустюльга Е.С. дал исчерпывающие ответы.

СЛУШАЛИ: эксперта от оппонирующей организации Расюк Е.Д., заместителя директора по научной работе РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, к.б.н., которая ознакомила присутствующих с отзывом оппонирующей организации и замечаниями.

СЛУШАЛИ: Соискателя ученой степени кандидата химических наук Пустюльгу Е.С., который ответила на указанные замечания эксперта.

ПОСТАНОВИЛИ:

Принять отзыв и рекомендовать диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 - биорганическая химия к публичной защите.

Отзыв принят открытым голосованием. В голосовании приняли участие 15 человек, имеющих ученую степень (д.м.н. Бордаков В.Н., д.м.н. Еремин В.Ф., д.м.н. Потапнев М.П., к.м.н. Карпенко Ф.Н., к.б.н. Расюк Е.Д., к.х.н. Марцев С.П., к.х.н. Петевка Н.В., к.б.н. Буко И.В., к.б.н. Власов А.П., к.б.н. Гармаза Ю.М., к.б.н. Кудра Н.В., к.м.н. Злотникова М.В., к.м.н. Космачева С.М., к.м.н. Дашкевич Э.В., к.м.н. Пешняк Ж.В.). Результаты голосования: за – 15, против – нет, воздержались – нет.

Эксперт:

Заместитель директора РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, к.б.н.

Е.Д. Расюк

Председатель заседания:

директор РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, к.м.н.

Ф.Н. Карпенко

Секретарь заседания:

ученый секретарь заседания РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий

О.Л. Пашикова

