ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Ронишенко Богдана Вячеславовича «Синтез конъюгатов белков и нуклеиновых кислот с неорганическими наноматериалами: квантовыми точками, окисленным графеном и наночастицами серебра» на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Исследования, посвящённые синтезу и применению квантовых точек, окисленного графена и наночастиц серебра, в том числе, для анализа белков и нуклеиновых кислот, в последние десятилетия являются одним из передовых направлений научных и научно-практических изысканий как в Республике Беларусь, так и во всём мире.

В рамках настоящей работы соискателю удалось синтезировать новые оригинальные варианты конъюгатов квантовых точек с красителем JOE, а затем подтвердить ковалентный характер связи конъюгатов квантовых точек с некоторыми биомолекулами: белком (бычьим сывороточным альбумином) и олигонуклеотидным дуплексом (20 пар оснований). Доказано, что для синтеза конъюгатов с олигонуклеотидами в большей степени подходят квантовые точки с цвиттер-ионной структурой поверхности.

Работа изобилует оригинальными методологическими подходами: разработан новый метод химической модификации стекла с целью усиления его способности к иммобилизации наночастиц серебра и окисленного графена, метод визуализации окисленного графена на поверхности таких «подложек», а затем и метод подсчёта количества его функциональных групп.

Полученные результаты обладают достаточной степенью научной новизны, в особенности, с учётом того, что соискателем досконально изучена кинетика перечисленных выше процессов. Важное место в работе занимает решение задачи по оценке влияния электростатических взаимодействий на процесс адсорбции и затем ковалентной конъюгации квантовых точек с JOE, а также квантовых точек – с олигонуклеотидами, олигонуклеотидов – с поверхностью покрытых частицами наносеребра стеклянных подложек.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси
16 12 2022
№ 1366

Практическая значимость работы заключается в том, что впервые полученные и испытанные соискателем конъюгаты, а также стеклянные подложки с наночастицами серебра могут быть использованы в аналитической, биоорганической и биологической химии, молекулярной биологии и медицине – для качественного и количественного анализа методом Рамановской спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния. Этот метод может позволить выявлять минимальные количества исследуемых веществ в растворах и биологических жидкостях, но только при условии правильного подбора наночастиц или подложек, многократно усиливающих сигнал в случае адсорбции на них молекул аналита. Практическая задача, решённая соискателем, как раз и заключается в том, как заставить отрицательно заряженные (в условиях эксперимента) молекулы нуклеиновых кислот провзаимодействовать с поверхностью подложки, покрытой частицами наносеребра. Решение заключается в добавлении в аналит катионов меди, которые связываются с нуклеиновыми кислотами и перезаряжают их.

Соискателем опубликовано семь статей в рецензируемых научных журналах, освоены не только химические методы создания наночастиц и их конъюгатов, но и спектральные методы исследования. Автореферат написан на ясном и конкретном белорусском языке, проиллюстрирован 17 рисунками. Поставленная цель достигнута, задачи полностью выполнены. Ронишенко Богдан Вячеславович заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Подпись В.В. Хрусталёва заверяю
Начальник отдела кадров
Белорусского государственного
медицинского университета
ОТДЕЛ КАДРОВ
Сасункевич Е.М.

Заведующий кафедрой общей химии
учреждения образования «Белорусский
государственный медицинский университет»,
доктор биологических наук,
доцент В.В.Хрусталёв

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации *Ронишенко Богдана Вячеславовича* «Сінтез кан'югатаў бялкоў і нуклеінавых кіслот з неарганічнымі нанаматэрыяламі: квантавымі кропкамі, акісленым графенам і наначасцінкамі срэбра», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Настоящая диссертационная работа представляет собой хороший пример междисциплинарного научного исследования, выполненного на стыке нескольких научных направлений, таких как биоорганическая, коллоидная, физическая химия и нанохимия, что является характерным признаком успешных научных работ в 21 веке. Данная работа охватывает разнообразные объекты исследования, включая полупроводниковые квантовые точки, коллоидные наночастицы серебра и оксида графена. Общим для всех исследуемых объектов является разработка методов химической модификации поверхности коллоидных объектов в водной среде с последующей функционализацией для эффективной конъюгации с модельными органическими красителями, белками и олигонуклеотидами. Конечной целью данного исследования являлось установление механизма функционирования указанных коллоидных нанообъектов в биохимических процессах, а также в сенсорных системах, базирующихся на детектировании молекул методами поверхностно усиленного комбинационного рассеяния и фотолюминесценции.

В работе продемонстрировано, что использование для химической модификации поверхности исследуемых нанообъектов бифункциональных молекул, содержащих одновременно первичные амино и азидные группы, позволяет эффективно осуществлять специфическую реакцию конъюгации на основе [3+2]-азидалкинового циклоприсоединения (так называемая «клик-химия») как с модельными низкомолекулрными органическими молекулами, так и с олигонуклеотидами и белками. Используя принципы контроля поверхностного заряда коллоидных полупроводниковых квантовых точек в водных средах, удалось показать существенную роль электростатического отталкивания на эффективность реакции клик-химии с нуклеотидным дуплексом и бычьим сывороточным

Институт биоорганической химии НАН Беларуси
16 12 2022
№ 1367

альбумином, меченными красителем с резонансным переносом энергии. Аналогичный подход был использован для химической модификации и конъюгации коллоидного оксида графена с производным модельного красителя JOE. Разработаны методики контролируемого осаждения коллоидного оксида графена и наночастиц серебра на поверхности химически модифицированной стеклянной подложки, что позволило успешно продемонстрировать возможность использования монослоев наночастиц серебра для детектирования модельных порфириновых молекул методом гигантского комбинационного рассеяния, а также значительного влияния ионов меди (II) на интенсивность сигнала ГКР.

Результаты работы опубликованы в целом ряде международных научных журналов и журналов из списка ВАК и являются достоверными. Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Ронишенко Богдан Вячеславович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Декан химического факультета БГУ
член-корреспондент НАН Беларуси,
д.х.н. Д.В. Свиридов

ПОДПИСЬ УДОСТОВЕРЯЮ
Начальник управления
организационной работы и
документационного обеспечения
Н.Б. Черкасская
«__»_____20___

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Ранишенко Богдана Вячеславовича «Сінтэз кан'югатаў бялкоў і нуклеінавых кіслот с неарганічнымі нанаматэрыяламі: квантавымі кропкамі, акісленым графенам і наначасцінкамі срэбра», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – біоорганическая хімія.

В настоящее молекулярно-генетические методы диагностики заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза широко распространены по всему миру и активно используются в рутинной диагностике. Долгое время одним из главных направлений в этой сфере считалось определение конкретных целевых последовательностей нуклеиновых кислот в образцах биологического материала посредством ПЦР и ПЦР в режиме реального времени. К сожалению, не смотря на ряд преимуществ, методы, основанные на использовании ПЦР имеют ряд ограничений как очевидных для всех пользователей, так и понятных только разработчикам. Среди главных недостатков ПЦР называют:

- продолжительность проведения анализа;
- сложность использования портативных устройств в силу высокого потребления энергии современными приборами;
- невысокую производительность в единицу времени;
- преимущественно открытый процесс внесения образцов сопряженный с риском перекрестной контаминации;
- низкую мультиплексность – возможность одновременного анализа нескольких молекулярных мишеней в одной пробирке;

На более продвинутом уровне стоит отметить, что сам принцип ПЦР – многократного копирования целевых участков нуклеиновых кислот не лишен изъянов в виде ошибок синтеза и неспецифического отжига олигонуклеотидов, что может приводить к ложноположительным результатам, а также скрывать реально положительные результаты. В некоторых случаях вариабельность генома исследуемого организма не позволяет распознать его с помощью технологии ПЦР, поскольку однородные последовательности являются непротяженными и стандартный набор олигонуклеотидов (не менее 60 н.о.) не может быть вписан в эти рамки.

В последние годы отмечается резкий рост популярности использования технологии ДНК-наносенсоров для анализа качественных и количественных характеристик нуклеиновых кислот, что по сути рассматривается как внедрение более прогрессивной технологии способной полностью заменить или как минимум серьезно потеснить ПЦР в недалеком будущем. К преимуществам данной технологии по сравнению с ПЦР относят:

- сокращенное в несколько раз время анализа одного образца;
- низкое энергопотребление и возможность использования портативных мобильных анализаторов;
- как минимум в два раза более высокую производительность в единицу времени;

Институт биоорганической химии НАН Беларуси
16 12 2022
№ 1371

- закрытый процесс анализа, что снижает риск перекрестной контаминации;

- высокую степень мультиплексности анализа.

Принцип технологии ДНК-наносенсоров не подразумевает использования ПЦР и/или иного копирования исходной матрицы. Высокая чувствительность метода позволяет анализировать нуклеиновые кислоты непосредственно после выделения и очистки. Вероятность неспецифического связывания с мишенью крайне мала. Ввиду возможности использования коротких зондов (от 18 н.о.) снижается процент ложноотрицательных результатов анализа в связи с высокой вариабельностью геномов анализируемых организмов, что является критическим при исследовании образцов биологического материала на наличие РНК-содержащих вирусов.

Диссертационная работа Б.В. Ранишенко посвящена актуальной и быстро развивающейся, крайне востребованной в практическом плане технологии создания конъюгатов неорганических соединений с органическими биополимерами и их фрагментами, а именно белками и нуклеиновыми кислотами. Подобные технологии лежат в основе конструирования диагностических биосенсоров различной природы.

Текст автореферата позволяет судить о том, что автор грамотно и всесторонне изучил имеющиеся работы по рассматриваемой проблеме. Акцент в работе сделан на неорганические материалы на поверхности которых происходит связывание фрагментов белков и нуклеиновых кислот. Предложено несколько вариантов подготовки материалов для связывания, проведены работы по оценке качественных и количественных характеристик конъюгатов, а также самих неорганических компонентов.

Результаты работы в достаточном объеме опубликованы в научных изданиях, апробированы на научных конференциях.

В связи с изложенным можно с уверенностью считать, что диссертационная работа Б.В. Ранишенко отвечает всем требованиям ВАК Беларуси, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор работы, засвидетельствовавший в результате её выполнения необходимый уровень квалификации, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Доцент кафедры биоорганической химии
БГМУ, к.х.н. _____ А.С. Бабенко
подпись

Подпись А.С. Бабенко заверяю
Начальник отдела кадров
Белорусского государственного
медицинского университета

ВОДГУК

на аўтарэферат дысертацыі Раншэнка Багдана Вячаслававіча «Сінтэз кан'югатаў бялкоў і нуклеінавых кіслот з неарганічнымі нанаматэрыяламі: квантавымі кропкамі, акісленым графенам і наначасцінкамі срэбра», прадстаўленай на атрыманне вучонай ступені кандыдата хімічных навук па спецыяльнасці 02.00.10 «Біяарганічная хімія»

Сённяшнія нанатэхналогіі адкрываюць мноства магчымасцяў прымянення наначасцінак у многіх галінах чалавечай дзейнасці, уключаючы біятэхналогіі, фармацыю і медыцыну. Нанатэхналогіі ўплываюць на развіццё нанамедыцыны, асабліва з пункту гледжання шырокага выкарыстання наначасцінак ў тэрапіі і дыягностыцы. Прагрэс у галіне медыцынскіх нанатэхналогій напрамую звязаны з новымі адкрыццямі ў галіне нанаматэрыялаў. Распрацоўка новых кан'югатаў наначасцінак з рознымі флюарэсцэнтнымі фарбавальнікамі, ферментамі і іншымі біялагічна важнымі малекуламі, а таксама распрацоўка метадаў імабілізацыі гатовых часцінак на розных паверхнях, уключаючы біялагічна сумяшчальныя матэрыялы, з'яўляецца асабліва актуальным для паскарэння прагрэсу ў сучаснай медыцыне. Менавіта гэтым важным пытанням сучаснай біятэхналогіі і прысвечана дысертацыйныя праца суіскальніка.

У працы сінтэзіраваны новыя кан'югаты паўправадніковых квантавых кропак з арганічным фарбавальнікам JOE з рознай колькасцю малекул фарбавальніка на адну квантавую кропку і пераносам энергіі, кан'югаты квантавых кропак з люмінесцэнтна мечаным бычым сываратачным альбумінам або алігануклеатыдным дуплексам і вызначаны іх аптычныя ўласцівасці і механізмы уплыву на кан'югацыю квантавых кропак з фарбавальнікам JOE або алігануклеатыдным дуплексам электрастатычнага ўзаемадзеяння, што дазваляе пашырыць магчымасці ужывання квантавых кропак у нанобіятэхналогіі. Распрацаваны шэраг новых метадаў у галіне бінанатэхналогіі, сярод якіх методыка функцыяналізацыі паверхні шкла і крэмнію полістыленімінам, метад візуалізацыі акісленага графену і метад вызначэння паверхнёвай колькасці функцыянальных груп у структуры акісленага графену. Прапанаваны таксама метад падатка ёнаў медзі ў аналіт для актывацыі сігналу гіганцкага камбінацыйнага рассеівання анізотропных аналітаў пры выкарыстанні нанаструктараваных ГКР-субстратаў на аснове срэбра.

Аўтарэферат дысертацыі напісаны з ужываннем добрай літаратурнай мовы і дае яснае ўяўленне аб выкананых суіскальнікам даследаваннях. Вынікі працы апублікаваныя ў навуковых часопісах Рэспублікі Беларусь і за мяжой (7 артыкулаў), а таксама прайшлі апрабацыю на міжнародных канферэнцыях розінага ўзроўню. Работа выканана ў межах буйных дзяржаўных навуковых праграм: ДПНД «Канвергенцыя», ДПНД «Прамысловыя бія- і нанатэхналогіі-2020» і ДП «Навукаёмкія тэхналогіі і тэхніка» і адпавядае прыярытэтным напрамкам навуковых даследаванняў і навукова-тэхнічнай дзейнасці Рэспублікі Беларусь на

Институт биоорганической химии НАН Беларуси
16. 12 2022
№ 1365

2016-2020 гг. і прыярытэтным напрамкам навуковай, навукова-тэхнічнай і інавацыйнай дзейнасці Рэспублікі Беларусь на 2021-2025 гады (п.2. «Біялагічныя, медыцынскія, фармацэўтычныя і хімічныя тэхналогіі і вытворчасці»).

Заключэнне.

Дысертацыйная праца Ранцэнка Багдана Вячаслававіча «Сінтэз кан'югатаў бялкоў і нуклеінавых кіслот з неарганічнымі нанаматэрыяламі: квантавымі кропкамі, акісленным графенам і наначасцінкамі срэбра», прадстаўленая на атрыманне вучонай ступені кандыдата хімічных навук па спецыяльнасці 02.00.10 – «Біяарганічная хімія», мяркуючы па яе аўтарэферате, цалкам адпавядае патрабаванням, што прад'яўляюцца да кандыдацкіх дысертацый ВАК РБ, а яе аўтар заслугоўвае прысуджэння шуканай ступені па спецыяльнасці 02.00.10 – «Біяарганічная хімія».

Прафесар кафедры медыцынскай
і біялагічнай фізікі
УО «Гомельскі дзяржаўны
медыцынскі універсітэт,
д.б.н., дацэнт Старадубцава М. М.

Подпись(и) Старадубцевой М.М.
удостоверяю
Инспектор по кадрам Козлова