

УТВЕРЖДАЮ

Директор НИИ ФХП БГУ

к.х.н.

Е.В. Гринюк

9 декабря 2022 г.



ОТЗЫВ

оппонирующей организации Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» на работу **Ронишенко Богдана Вячеславовича** «СІНТЭЗ КАН'ЮГАТАЎ БЯЛКОЎ І НУКЛЕІНАВЫХ КІСЛОТ З НЕАРГАНІЧНЫМІ НАНАМАТЭРЫЯЛАМІ: КВАНТАВЫМІ КРОПКАМІ, АКІСЛЕНЫМ ГРАФЕНАМ І НАНАЧАСЦІНКАМІ СРЭБРА», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

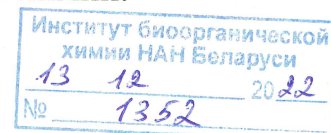
1. Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и отрасли науки.

Работа посвящена разработке новых методов и методик формирования конъюгатов различных материалов, включая коллоидные квантовые точки, наночастицы серебра и окисленного графена с различными биомолекулами, представляющих интерес для биомедицинских приложений и сенсорики. Представленная диссертационная работа «Сінтэз кан'югатаў бялкоў і нуклеінавых кіслот з неарганічнымі нанаматэрыяламі: квантавымі кропкамі, акісленым графенам і наначасцінкамі срэбра» относится к специальности 02.00.10 – биоорганическая химия и отрасли «химические науки».

2. Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости.

Научный вклад в развитие актуального направления научных исследований заключается в следующем:

Разработаны лабораторные методики функционализации коллоидных люминесцентных полупроводниковых квантовых точек, покрытых амфифильной полимерной оболочкой, низкомолекулярными бифункциональными молекулами, содержащими заряженные и азидные группы, позволяющими регулировать как поверхностный заряд коллоидных наночастиц, так и их реакционную способность с молекулами органических красителей, олигонуклеотидов и белков при использовании реакций клик-химии.



Разработаны методики оценки эффективности реакции конъюгации и количества присоединенных молекул к поверхности полимерной оболочки нанокристаллов оптическими методами. Экспериментально доказано существенное влияние фактора электростатического отталкивания на эффективность реакции клик-химии между одноименно заряженными коллоидными квантовыми точками и молекулами анионных красителей и олигонуклеотидов. Разработаны методики выделения и очистки полученных конъюгатов методом гель-эксклюзионной хроматографии.

Исследован механизм восстановления оксида графена, а также процесс функционализации коллоидного оксида графена бифункциональными молекулами для последующей конъюгации посредством реакции клик-химии с модельными органическими красителями; разработана методика иммобилизации коллоидного оксида графена на поверхности стеклянных матриц различной геометрии, методика количественной оценки эффективности функционализации оксида графена, также конъюгации красителя с оксидом графена с использованием эффекта резонансного переноса энергии от молекул красителя к оксиду графена и спектров поглощения для доказательства образования конъюгата.

Разработаны методики осаждения коллоидных плазмонных наночастиц серебра на поверхности химически модифицированных стеклянных и кремниевых матриц, методики химической модификации поверхности осажденных серебряных наночастиц для последующего электростатического связывания с модельными ГКР-метками на основе производных порфирина и меченого красителем олигонуклеотида, исследовано влияние типа заряженных групп поверхностного лигандного слоя наночастиц серебра на эффективность детектирования молекул порфирина и олигонуклеотида методом гигантского комбинационного рассеяния.

3. Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень.

Соискателем получены оригинальные результаты, характеризующиеся научной новизной и практической значимостью.

Научной новизной характеризуются следующие результаты:

- впервые исследовано влияние фактора электростатического отталкивания на процесс конъюгации полупроводниковых квантовых точек, модифицированных азидными группами, с молекулами красителя и олигонуклеотидным дуплексом, содержащими циклоактиновую функцию;
- исследована кинетика конъюгации олигонуклеотидного дуплекса и

красителя с квантовыми точками. Произведено сравнение активности квантовых точек с анионным и цвиттерионным строением поверхности при конъюгации с олигонуклеотидным дуплексом и показана перспективность использования последних для повышения эффективности конъюгации;

- исследовано влияние количества функциональных групп на поверхности квантовых точек на скорость конъюгации с красителем;

- впервые получены конъюгаты квантовых точек с красителем JOE с переносом энергии с разным числом молекул красителя, приходящихся на одну квантовую точку;

- в качестве реагента для восстановления азидных групп наноструктур в водной среде предложен трис(карбоксиэтил)фосфин;

- разработан метод функционализации поверхности стекла полиэтиленгликолем. Впервые предложен метод определения поверхностной плотности функциональных групп и определено количество эпоксидных групп в структуре окисленного графена;

- оценена активность эпоксидных групп окисленного графена в реакции с аминами в водной среде в условиях, подходящих для биоконъюгации, а также устойчивость модификаций, вводимых путем раскрытия эпоксидных групп окисленного графена аминами, при восстановлении гидразином;

- предложен новый метод визуализации наночастиц графена на изображениях растровой электронной микроскопии путем адсорбционной иммобилизации наночастиц серебра.

Практическая значимость полученных в результате выполнения диссертационного исследования результатов заключается в:

- методика формирования конъюгатов коллоидных люминесцентных квантовых точек и биомолекул с использованием реакции [3+2]-азидалкинового циклоприсоединения (клик-химии) имеет практическое значение для получения высокоспецифических флуоресцентных нанозондов для использования в биомедицинских приложениях;

- ГКР-активные субстраты на основе коллоидных наночастиц серебра, осажденных на поверхность различных материалов практически полезны для применения в сверхчувствительном ГКР-анализе органических и биологических молекул в растворах.

Соискателю может быть присуждена ученая степень кандидата наук за:

- 1) методику формирования конъюгатов коллоидных полупроводниковых квантовых точек с химически модифицированной полимерной оболочкой и модельным красителем JOE на основе реакции [3+2]-азидалкинового циклоприсоединения (клик-химии), позволившую установить количественные закономерности реакции в реальном режиме времени с использованием эффекта

резонансного переноса энергии от молекулы красителя к квантовой точке;

2) обоснование влияния эффекта электростатического отталкивания на эффективность и кинетические закономерности реакции [3+2]-азидалкинового циклоприсоединения (клик-химии) с нуклеотидным дуплексом и бычьим сывороточным альбумином, меченным красителем с резонансным переносом энергии, что позволило сформулировать требования к поверхностному заряду (дзета-потенциалу) квантовых точек для эффективного протекания реакции конъюгации;

3) установление механизма и выявление количественных закономерностей процессов химической модификации коллоидного оксида графена на поверхности стеклянной матрицы и в растворе, включая реакцию восстановления, модификации азид-содержащими бифункциональными молекулами, [3+2]-азидалкинового циклоприсоединения с производным модельного красителя JOE;

4) разработку методик электростатического осаждения коллоидного оксида графена на химически модифицированные стеклянные и кремниевые подложки, методик количественной оценки числа осажденных наночастиц с использованием сканирующей электронной микроскопии, экспериментальную демонстрацию использования электростатически осажденных серебряных плазмонных наночастиц для ГКР-анализа модельных порфириновых молекул и меченых красителем олигонуклеотидов;

5) экспериментальную демонстрацию значения фактора электростатического взаимодействия между поверхностью химически модифицированных наночастиц серебра и молекулами аналитов при их ГКР-анализе, а также роль ионов меди в растворе в многократном увеличении интенсивности сигнала ГКР от порфириновых молекул и олигонуклеотида.

4. Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.

Основные цели и задачи диссертационной работы Ронищенко Б.В., научная и практическая значимость полученных в ней результатов, объем выполненных исследований, использованные современные экспериментальные методы и методики, научные инструменты и оборудование, корректность сделанных выводов, стиль изложения материала позволяют сделать вывод о том, что научная квалификация автора соответствует ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Замечания по диссертации:

1. Таблица 1.1. Стоксов сдвиг для квантовых точек прямозонных полупроводниковых материалов типа халькогенидов кадмия составляет порядка

10-50 нм, но не 100-500 нм.

2. Рисунок 2.3. Присоединение NH_2 -ТЭГ- N_3 к карбоксилатным квантовым точкам должно приводить к частичному уменьшению, а не увеличению модуля (отрицательного) дзета-потенциала квантовых точек.

3. Электронно-микроскопический метод визуализации нанопластин оксида графена, электростатически осажденного на кремниевой подложке декорированием наночастицами серебра (рисунок 2.24Б) не учитывает, что размер пустот определяется электростатическим взаимодействием между наночастицами серебра и оксида графена, которое неравнозначно взаимодействию только между наночастицами серебра на рисунке 2.24А.

4. Термин «клик без меди» на стр. 73 выглядит неудачно.

5. С нашей точки зрения автор некорректно утверждает, что присутствие треугольных наночастиц серебра на ПЭМ снимке (рисунок 2.32А) и отсутствие таковых на СЭМ снимке (рисунок 2.32Б) свидетельствует о том, что они являются продуктом агрегации (коалесценции) в процессе препарирования. В нижней части снимка на рисунке 2.32Б отчетливо видно присутствие треугольной частицы, если учесть влияния jitter-эффекта при съемке объектов в сканирующем электронном микроскопе с большой выдержкой.

Вышеуказанные замечания не влияют на основные выводы и общую положительную оценку диссертационной работы Ронишенко Б.В.

Заключение.

Диссертационная работа Ронишенко Б.В. «Сінтез кан'югатаў бялкоў і нуклеінавых кіслот з неарганічнымі нанаматэрыяламі: квантавымі кропкамі, акісленым графенам і наначасцінкамі срэбра» представляет собой законченное квалификационное научное исследование, актуальное в теоретическом и практическом отношениях. Работа выполнена на высоком научном уровне и по объему проведенных исследований, и по значимости полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым ВАК Беларуси к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук (пп. 19-26 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь»).

Считаем, что Ронишенко Б.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия.

Отзыв составлен на основе всестороннего анализа представленной диссертационной работы, устного доклада соискателя, заключения эксперта д.х.н. Логиновой Н.В. и одобрен на заседании расширенного научного семинара

лаборатории нанохимии, лаборатории химии свободнорадикальных процессов, лаборатории химии тонких пленок, лаборатории биохимии лекарственных препаратов НИИ ФХП БГУ (протокол № 1 от 09.12.2022 г.).

На заседании присутствовало 19 человек, из них 2 доктора наук и 7 кандидатов наук.

В голосовании приняли участие 9 человек с ученой степенью (д.х.н., доц. Артемьев М.В., д.х.н., проф. Логинова Н.В., к.х.н., доц. Врублевская О.Н., к.х.н. Ничик М.Н., к.х.н. Гурин В.С., к.х.н., доц. Григорьев Ю.В., к.х.н. Осипович Н.П., к.х.н. Позняк С.К., к.х.н. Мальтанова А.М.) Результаты открытого голосования: «за» – 9, «против» – нет, воздержавшихся – нет.

Председатель заседания:

Заместитель директора НИИ ФХП БГУ
по научной работе, кандидат
хим. наук, доцент

О.Н. Врублевская

Секретарь:

Ученый секретарь НИИ ФХП БГУ
кандидат хим. наук

М.Н. Ничик

Эксперт:

Главный научный сотрудник НИИ ФХП БГУ
доктор хим. наук, профессор

Н.В. Логинова

Подпись т. Врублевской О.Н., Ничик М.Н., Логиновой Н.В.
УДОСТОВЕРЯЮ
Нач.отдела
КАДРАУ
И.А. Чумакова