

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Епанчинцевой Анны Валерьевны
«**Взаимодействие олигонуклеотидов и сферических наночастиц золота в составе нековалентных ассоциатов**», представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Диссертационная работа Епанчинцевой Анны Валерьевны посвящена вопросам нековалентного взаимодействия нуклеиновых кислот с наночастицами золота. Название работы достаточно точно локализует область проведенных исследований. Речь идет о **решении** задачи, связанной с расширением знаний о химическом образовании ассоциатов наночастиц золота и олигонуклеотидов.

Наночастицы золота и их фундаментальная и практическая значимость весьма хорошо описаны в современной литературе. Большой пул работ по химической модификации таких частиц направлен на изучение ковалентных взаимодействий поверхности наночастиц золота с целевыми молекулами – лигандами. Тем не менее, по-прежнему достаточно остро стоит вопрос о нековалентном взаимодействии таких частиц с лигандами. В качестве одного из таких типов лигандов выступают нуклеиновые кислоты, способные взаимодействовать с поверхностью золота за счет образования различных электростатических, ван-дер-ваальсовых, гидрофобных и пр. связей. В современной литературе также встречаются работы, посвященные изучению образования таких связей, однако, в настоящий момент, существует несогласованность в предложенных моделях таких взаимодействий.

В связи с вышеизложенным, **актуальность** настоящего диссертационного исследования, посвященного изучению влияния различных факторов на модель связывания «наночастица золота – нуклеиновая кислота», а также их систематизации не вызывает сомнений.

Диссертация А.В. Епанчинцевой изложена на 194 страницах и состоит из Введения (4 стр.), Обзора литературы (61 стр.), Экспериментальной части, названной «Материалы и методы» (12 стр.), главы «Результаты и обсуждение» (70 стр.), Выводов (2 стр.), Списка сокращений (4 стр.), Списка терминов (1 стр.) и Списка литературы из 410 наименований (34 стр.). В целом объемы диссертации, относящиеся к рассмотрению собственных результатов и сопутствующей информации близка к соотношению 50:50.

В **обзоре литературы** диссертации информация систематизирована по типам взаимодействия золотых поверхностей с различными соединениями: простыми органическими молекулами, такими как бензол, аминопирен, цитрат-анион и т.д., а также сложными молекулами как пептиды и нуклеиновые кислоты. При этом обзор литературы можно разделить на три части. Первая часть посвящена взаимодействию

условно простых молекул и затрагивает как их ковалентное связывание с поверхностью золота, так и нековалентное. Важным считаю необходимость отметить тот факт, что несмотря на небольшой занимаемый объём данной части обзора литературы (17 из 61 страниц) в нём сосредоточено чуть меньше половины (154 ссылки, 9 ссылок на стр.) всей цитируемой в обзоре литературы. По этой причине, несмотря на общую проработанность обзора литературы, данная часть выглядит весьма скомкано и сумбурно. Иным образом выглядят вторая и третья части обзора литературы, которые посвящены взаимодействию наночастиц золота с аминокислотами и пептидами (12 стр., 47 ссылок), нуклеиновыми кислотами, а также практической значимости таких ассоциатов (34 стр., 135 ссылок), соответственно. Последние две части и, в особенности третья, полностью раскрывают всю проблему, очень хорошо структурированы, написаны весьма лаконично и с глубокой проработкой. Обзор литературы заканчивается заключением, в котором весьма четко и логично изложена вытекающая из обзора литературы нерешённая научная проблема, на решение которой и направлена данная диссертационная работа.

В **экспериментальной части** диссертационной работы, названной «Материалы и методы», приводятся общие сведения об исходных соединениях и оборудовании, используемых в диссертационной работе. Методики всех проведенных экспериментов описаны подробно и не вызывают никаких сомнений.

Глава **результаты и обсуждение** занимает добротную часть диссертации и разбита на четыре смысловые части. Первая часть главы посвящена анализу связывания нуклеиновых кислот с наночастицами золота. Анна Валерьевна весьма убедительно и обоснованно в качестве основного использует метод электрофореза, совмещенный как с органолептическим восприятием, так и с инструментальными оптическими методами анализа. Вторая часть главы содержит описание получения количественных показателей связывания нуклеиновых кислот и наночастиц золота. В данной части главы в качестве основного метода также был выбран электрофорез, но совместно с радиоактивно мечеными олигонуклеотидами, что и позволило определить некоторые количественные параметры связывания. Третья часть, являющаяся наиболее сложной для восприятия, описывает селекцию различных олигонуклеотидов по их аффинности к наночастицам золота, влияние определенных последовательностей, а также вторичной структуры нуклеиновых кислот, на их аффинность к наночастицам золота. Заключительная часть главы посвящена возможности применения такого нековалентного связывания нуклеиновых кислот с наночастицами золота для стабилизации и доставки малых интерферирующих РНК. В качестве положительного момента хотел бы отметить, что в конце каждой части главы излагается краткое заключение и промежуточные выводы, сильно облегчающие восприятие диссертационной работы.

Работа прошла необходимую апробацию. Её основной результат опубликован в 6 статьях в рецензируемых журналах и на 5 научных конференциях, а также были обобщены в настоящей диссертации.

Отмечу, что новизна и обоснованность выводов, сформированных в диссертации, не вызывает сомнений. Они подкреплены множественными взаимно пересекающимися данными.

Таким образом, все требования, предъявляемые к кандидатским диссертациям, выполнены в полном объеме. У меня нет ни одного замечания по формальным моментам работы. В целом, работа оставила о себе очень хорошие впечатления.

В качестве замечаний по работе могу обратить внимание лишь на следующее:

1. В тексте диссертации достаточно часто встречаются различные опечатки и неточности. Например, на стр. 26 поливинилметакрилат сокращенно обозначается как РММА. Обычно аббревиатура РММА используется, когда речь идет о полиметилметакрилате, но никак не поливинилметакрилате. Кроме того, достаточно часто встречается какое-либо сокращение, расшифровка которого приводится лишь в следующем абзаце, а то и на следующей странице. Апогей же стала нумерация глав. У диссертанта глава «Результаты и обсуждения» идет следующим образом: 4.6, 4.2, 4.3 и 4.4. Это также присутствует и в Оглавлении.

2. При чтении работы возник вопрос, ответ на который найден не был. Хотелось бы услышать пояснения у диссертанта о причине выбора именно наночастиц золота со средним диаметром $12,7 \pm 2$ нм. Почему использовались именно такие частицы. Может быть при использовании частиц другого размера нуклеиновые кислоты будут связываться с поверхностью золота по иным закономерностям? Кроме того, приведение среднего диаметра как $12,7 \pm 2$ нм является не верным. Последняя значащая цифра – целое число. Верным было бы привести размер частиц как 13 ± 2 нм.

3. В тексте диссертации автор использует такую величину как концентрация наночастиц золота в единицах моль/л. Хотелось бы знать, что автор имеет ввиду под этим словосочетанием. Это концентрация, рассчитанная на атомы золота, или именно концентрация частиц, которые очевидно состоят из нескольких атомов золота. Тем более, что, зная средний диаметр такой частицы, достаточно просто посчитать сколько конкретно атомов золота приходится на одну частицу.

4. На рис. 31, стр. 85 представлено сканированное изображение гелей после электрофоретического разделения НЧЗ-L0. Часть рисунка Б демонстрирует люминесцентную визуализацию с помощью этидиум бромид. Для меня остается загадкой по какой причине наблюдается люминесценция только чистых нуклеиновых кислот, тогда как ассоциат не проявляет люминесценцию.

5. На стр. 99 приведены промежуточные выводы по первой части главы. Пункт 6. «была получена концентрационная зависимость НК к НЧЗ путем анализа

ассоциатов НЧЗ-НК в 0,8% агарозном геле» выделяется из общей картины и, по сути, не является выводом.

6. На стр. 128 диссертант использует сокращения 4.1, 4.2, 5.1 и 5.2 относящиеся к РНК-дуплексам, несущим одну или две ФГ-группы. Однако уже в следующем абзаце автор использует эти же цифры 4.1 и 4.2, но уже в контексте нумерации глав. На мой взгляд сокращения для РНК-дуплексов, совпадающие с нумерацией глав весьма неудачно, и вызывает небольшую путаницу. Стоит придумать иное сокращение.

7. На рис. 54, стр. 132, на изображениях ПЭМ абсолютно невозможно различить шкалу. Стоило её более четко выделить.

Сделанные замечания ни в коей мере не подвергают сомнению научные выводы, сделанные соискателем. Обсуждаемая работа – цельное и законченное, в рамках сформулированных задач, научное исследование, результаты которого описаны обстоятельно.

Таким образом, по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа А.В. Епанчинцевой отвечает требованиям, установленным Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН к кандидатским диссертациям. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 02.00.10 биоорганическая химия (химические науки), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Диссертация оформлена согласно Приложением № 5, 6 Положения о диссертационных советах, а ее автор Епанчинцева Анна Валерьевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Заведующий лабораторией биоактивных неорганических соединений, старший научный сотрудник ФГБУН Института неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН

Кандидат химических наук

Шестопалов Михаил Александрович

13 марта 2020 г.

630090, Новосибирск, пр-кт Акад. Лаврентьева, 3

Тел. +7 (383) 316-56-39; e-mail: shtopy@niic.ncs.ru

Я согласен на обработку моих персональных данных.

