

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.392.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФГБОУ ВО «САРАТОВСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО» МИНОБРНАУКИ
РОССИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15.02.2024 г. № 3

О присуждении Пиденко Павлу Сергеевичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Молекулярный импринтинг с использованием белковых молекул: создание сорбентов и их применение в иммуноанализе» по специальности 1.4.2. Аналитическая химия принята к защите 11.12.2023 г. (протокол № 28), диссертационным советом 24.2.392.03, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» Минобрнауки России, 410012, Россия, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, утвержден приказом Минобрнауки РФ № 75-нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Пиденко Павел Сергеевич, 22 ноября 1995 года рождения.

В 2019 году соискатель окончил федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» (ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»), в 2023 году окончила аспирантуру ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», работает научным сотрудником лаборатории неорганической химии ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» Минобрнауки России.

Диссертация выполнена на кафедре общей и неорганической химии ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» Минобрнауки России.

Научный руководитель – доктор химических наук, доцент Бурмистрова Наталия Анатольевна, ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», профессор кафедры общей и неорганической химии.

Официальные оппоненты:

Зяблов Александр Николаевич, доктор химических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», профессор кафедры аналитической химии,

Гендриксон Ольга Дмитриевна, кандидат химических наук, федеральное государственное учреждение Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук, лаборатория иммунобиохимии Института биохимии им. А.Н Баха, старший научный сотрудник,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанным д.х.н., гл. науч. сотр. кафедры аналитической химии Апяри Владимиром Владимировичем, указала, что: «...В цели диссертационной работы и в п. 1 заключения говорится о разработке «методов получения МИП». Использование такого широкого понятия, как «метод», представляется в данном случае не вполне оправданным... В главе «3.2. Аналитические характеристики ПАНИ МИП» речь идет, в том числе, о расчете сорбционной емкости... При этом в качестве результатов оценки этой величины в работе даны оптические плотности в растворе и на мультикапилляре, а также степени извлечения аналита из раствора... сами по себе не являющиеся характеристиками сорбционной емкости. За исключением отдельных качественных описаний, экспериментальных подтверждений выбора оптимальных условий синтеза МИП на основе полианилина ... в работе не приводится... Анализ каждого образца пшеницы проводили трижды..., следовало бы привести доверительные интервалы для указанных средних значений или иные оценки повторяемости... Отсутствие характеристик случайных погрешностей делает невозможной оценку значимости расхождения результатов анализа... Диссертационная работа Пиденко Павла Сергеевича является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной

задачи, имеющей значение для развития аналитической химии. Диссертация соответствует требованиям ... «Положения о присуждении ученых степеней», ... предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук...».

Соискатель имеет 25 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 13 работ, включая 8 статей в журналах, входящих в перечень ВАК и библиографические базы данных Web of Science и Scopus, 5 статей в сборниках материалов конференций и патент РФ. Во всех работах Пиденко П.С. участвовал в постановке задач, проведении эксперимента, обработке и интерпретации полученных результатов, и написании статей. Основные работы:

1. Pidenko P. S., Pidenko S. A., Skibina Y. S., Zacharevich A. M., Drozd D. D., Goryacheva I. Y., Burmistrova N. A. Molecularly imprinted polyaniline for detection of horseradish peroxidase // *Anal. Bioanal. Chem.* 2020. Vol. 412. P. 6509–6517.
2. Pidenko P., Zhang H., Lenain P., Goryacheva I., De Saeger S., Beloglazova N. Imprinted proteins as a receptor for detection of zearalenone // *Anal. Chim. Acta.* 2018. Vol. 1040. P. 99–104.
3. Burmistrova N. A., Pidenko P. S., Pidenko S. A., Zacharevich A. M., Skibina Y. S., Beloglazova N. V., Goryacheva, I. Y. Soft glass multi-channel capillaries as a platform for bioimprinting // *Talanta.* 2020. Vol. 208. 120445.
4. Pidenko P., Presnyakov K., Beloglazova N., Burmistrova N. Imprinted proteins for determination of ovalbumin // *Anal. Bioanal. Chem.* 2020. Vol. 414. P. 5609–5616.
5. Пиденко П. С., Пресняков К. Ю., Дрозд Д. Д., Бурмистрова Н. А. Селективные сорбенты на основе импринтированной глюкозооксидазы // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 9. С. 807–812.
6. Пиденко П. С., Пресняков К. Ю., Бурмистрова Н. А. Белковые молекулы: шаблоны и матрицы в молекулярном импринтинге // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 8. С. 675–689.
7. Бурмистрова, Н. А., Пиденко, П. С., Пресняков, К. Ю., Дрозд, Д. Д., Скибина, Ю. С., Пиденко, С. А., Горячева, И. Ю. Поликапиллярные системы в аналитической химии // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. № 7. С. 579–592.

На автореферат диссертации поступили 8 положительных отзывов из 6 организаций.

Отзыв к.х.н., доцента, ведущего научного сотрудника, директора Института естественных и технических наук Сургутского государственного университета Петровой Ю.Ю.: «...Желательно привести не только брутто формулы некоторых веществ, но и их названия... На С. 10 требует уточнения следующая информация: «...наблюдали увеличение толщины слоя ПАНИ до 490 нм» (по сравнению с ПАНИ НИП?)... На рис. 1 (С. 10) уточните, какой был режим регистрации ИК-спектров?». Отзыв д.х.н., профессора, зав. кафедрой аналитической химии Казанского федерального университета Евтюгина Г.А.: «...В формулировке поставленных задач необходимо было использовать неопределенную форму глагола... Стр. 12: АПТЭС — этокси производное, а не 3-аминопропилтриметоксисилан, как указано в тексте... Таблица 4 — необходимо указывать доверительный интервал найденных концентраций аналита для обоих методов... Также необходимо было дать определение ПО ..., и почему рассчитанные значения так отличаются друг от друга... Кроме того, работа бы выиграла, если бы соискатель уделил внимание обоснованию выбора объектов импринтинга..., а также сравнил характеристики разработанных методик определения с имеющимися аналогами и альтернативными решениями...». Отзыв д.х.н., профессора кафедры аналитической химии Санкт-Петербургского государственного университета Кирсанова Д.О.: «По ходу изложения материалов автореферата часто встречаются не вполне удачные речевые обороты... В автореферате не описана процедура получения экстрактов пшеницы и кондитерских изделий... В формулировке цели присутствуют несогласованные предложения... В тексте автореферата не приведены типичные, встречающиеся на практике диапазоны содержания зеараленона в образцах пшеницы и овальбумина в образцах кондитерских изделий... В явном виде не сформулированы ограничения предложенных методик анализа...». Отзыв к.х.н., доцента кафедры аналитической химии Уфимского университета науки и технологий Перфиловой Ю.А.: «Чем обусловлен выбор ... аналитов? А также чем обусловлен выбор ... полимеров для создания МИП? ...Какими преимуществами и недостатками обладают разработанные методики по

сравнению с имеющимися в литературе? В описаниях к табл. 4, 5 и 6 указано, что $n=3$, но в значениях «найдено» не указаны доверительные интервалы, следовало бы указать...». Отзыв д.б.н, профессора, руководителя Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения ФГБУ ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук» Маторы Л.Ю.: «К отмеченным недостаткам оформления автореферата следует отнести достаточно большое количество опечаток...». Отзыв д.х.н., профессора РАН, профессора кафедры аналитической химии Санкт-Петербургского государственного университета Булатова А.В.: без замечаний. Отзыв к.х.н, доцента кафедры аналитической химии Уфимского университета науки и технологий Зильберг Р.А.: без замечаний. Отзыв д.х.н., профессор, зав. кафедрой аналитической химии Кубанского государственного университета Темердашева З.А.: без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетенцией в области иммунохимических методов анализа и использования синтетических и природных рецепторных систем, наличием публикаций по данной тематике.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны новые способы получения молекулярно импринтированных полимеров (МИП), специфичных к пероксидазе хрена (ПХ), на основе полианилина и волокон полиуретана и поливинилпироллидона, полученных методом электроспиннинга, позволившие расширить границы применимости импринтинга при определении белковых соединений;

предложены оригинальные подходы к молекулярному импринтингу альбуминов (бычий сывороточный альбумин, овальбумин) и ферментов (глюкозооксидаза), специфичных к низко- (зеараленон, 4-гидроксикумарин, кумарин) и высокомолекулярным (овальбумин, ПХ) шаблонам;

доказана перспективность предложенных способов и подходов в области практического использования импринтированных белков, специфичных к низко- и высокомолекулярным шаблонам, иммобилизованным на поверхности полистирольных микротитровальных планшетов и стеклянных мультикапилляров, для определения микотоксина зеараленона в экстрактах

пшеницы и кукурузы, а также овальбумина в экстрактах кондитерских изделий, в конкурентном формате анализа;
введены пояснения и некоторые новые трактовки терминологических понятий в области молекулярного импринтинга белковых молекул.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:
предложены новые способы получения МИП на основе полианилина, полиуретана и поливинилпироллидона и импринтированных белков на поверхности различных полимерных, микрокапиллярных и модифицированных силикатных носителей, расширяющие возможности использования молекулярного импринтинга в аналитической химии низко- и высокомолекулярных соединений;
применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов), использован комплекс современных методов анализа и исследований, в том числе ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектированием, электронная абсорбционная, флуоресцентная и ИК-спектроскопия и сканирующая электронная микроскопия;
изложены идеи, положения, доказательства, гипотезы по вопросу о возможных закономерностях влияния природы и концентрации молекул шаблона при получении импринтированных белков на сорбционные свойства МИП;
раскрыты некоторые терминологические особенности в трактовке импринтинга белковых молекул;
изучены возможности применения методов визуализации данных с применением 3D флуоресцентной спектроскопии для контроля процесса очистки импринтированных белков от молекул шаблонов методом диализа.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:
представлены предложения по дальнейшему совершенствованию получения МИП на основе различных высокомолекулярных соединений, специфичных к шаблонам различной природы;
определены перспективы практического использования МИП, специфичных к белковым молекулам (на примере ПХ), на основе полианилина и материалов,

полученных методом электроспиннинга полиуретана и поливинилпироллидона, а также селективного сорбента для твердофазной экстракции зеараленона на основе частиц оксида кремния (IV), модифицированных импринтированной глюкозооксидазой; разработаны: методики определения зеараленона в экстрактах сельскохозяйственных культур (пшеница и кукуруза) и овальбумина в экстрактах кондитерских изделий в конкурентном формате, включающие использование импринтированного белка для твердофазной экстракции аналита, а также способ контроля процесса очистки импринтированных белков от молекул шаблона с использованием 3D флуоресцентной спектроскопии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ достоверность полученных результатов подтверждается применением комплекса современных методов исследования, согласием между собой данных, полученных различными независимыми методами, а также отсутствием противоречий с литературными данными, апробацией полученных данных на всероссийских и международных конференциях, публикацией основных положений диссертационного исследования в профильных высокорейтинговых реферируемых, рецензируемых журналах.

Личный вклад соискателя состоит в обсуждении цели и задач исследования, выборе и выполнении теоретических и экспериментальных исследований, непосредственном проведении эксперимента, в участии во всех процедурах анализа и интерпретации полученных результатов, установлении закономерностей и формулировке выводов, написании статей и заявки на патент, подготовке и представлении результатов на конференциях.

В ходе защиты диссертации были озвучены следующие замечания и вопросы:

Официальный оппонент Зяблов А.Н.: «...Цель работы состояла в разработке методов получения МИП... Однако методы используемые для синтеза МИП ранее известны. К заслугам диссертанта, вероятно, относится разработка методики синтеза? ...Корректнее было бы написать, что анализ микотоксинов проводили методом ВЭЖХ-МС..., а не ЖХ МС/МС... На рис.8

отсутствуют подписи по оси ординат. Не понятно, это фрагмент спектра поглощения или пропускания? ...В тексте указано, что ... установлена необходимость синтеза удерживающего слоя ПАНИ в течение 1,5 мин при соблюдении соотношения C_6H_8ClN (10 ммоль/л, 100 мкл) и $(NH_4)_2S_2O_8$ (12,5 ммоль/л, 100 мкл) 1:1,25 в HCl (0,2 ммоль/л). Почему выбраны такие соотношения и что будет при других соотношениях? ...Что такое твердофазный импринтинг? ...На стр.81 приведены оптимальные условия синтеза... Как они подбирались? ...По тексту встречаются опечатки..., плохо читаемые подписи в рисунках, очень много сокращений, это затрудняет чтение...».

Официальный оппонент Гендриксон О.Д.: «...Среди указанных на рисунке 1 синтетических рецепторов, перечисленных в ряду искусственных рецепторных систем, отсутствуют олигонуклеотидные рецепторы (аптамеры) и пептиды с варьируемой специфичностью. Было бы полезно обсуждение в литературном обзоре данных видов рецепторных систем... Из текста диссертации остается не понятным, изучалась ли степень сохранения сайтов связывания после регенерации МИП и отмывки аналита, стабильность и сохранение свойств МИП при хранении... Соискатель не указывает, на чем основан выбор белка для матрицы при получении МИП к зеараленону. Чем целесообразно руководствоваться, выбирая белок для получения отпечатков, влияет ли на выбор характер аналита? ...Представляет интерес сравнение аналитических характеристик разработанных в диссертации методов с применением МИП с характеристиками детекции изучаемых аналитов на основе природных рецепторов... Как с учетом этого сравнения соискатель может оценить потенциальные перспективы применения разработанных подходов, по каким характеристикам показаны их конкурентные преимущества?».

Официальные оппоненты отметили, что высказанные замечания не снижают общего положительного впечатления о работе и имеют рекомендательный характер.

В процессе дискуссии выступили члены диссертационного совета: проф. Панкратов А.Н., проф. Русанова Т.Ю., проф. Горячева И.Ю., проф. Шиповская

А.Б. Членами диссертационного совета были отмечены положительные стороны работы, критических замечаний высказано не было.

Соискатель Пиденко Павел Сергеевич ответил на все вопросы, задаваемые ему в ходе заседания, согласился с частью замечаний и привел собственную аргументацию относительно методик синтеза и свойств, представленных в работе молекулярно импринтированных полимеров и методик анализа на их основе, графического представления данных, а также соискатель обосновал преимущества и ограничения использования молекулярно импринтированных материалов для анализа низко- и высокомолекулярных соединений.

На заседании 15 февраля 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Пиденко П.С. ученую степень кандидата химических наук за решение научной задачи, имеющей значение для разработки способов получения молекулярно импринтированных полимеров, примененных для определения низко- и высокомолекулярных соединений.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 4 докторов наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия, участвовавших в заседании, из 15 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 15, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель диссертационного совета,
д.х.н., профессор
Ученый секретарь диссертационного совета,
д.х.н., доцент
15 февраля 2024 г.

