

Отзыв официального оппонента на диссертацию
Элеоноры Владимировны Штыковой
**«Метод малоуглового рентгеновского рассеяния в структурной диагностике
надмолекулярных комплексов»**

представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности
01.04.18 – «Кристаллография, физика кристаллов» в диссертационный совет Д 002.114.01

Актуальность данного исследования диктовалась в первую очередь необходимостью изучения сложно организованных супрамолекулярных комплексов, в том числе биологических молекул. Хорошо известно, что клеточные компоненты формируют динамические, но в то же время относительно устойчивые комплексы, но методов их изучения в "естественных" условиях (а не в вакууме) совсем мало. Метод малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) позволяет получать точные данные о структуре супрамолекулярных комплексов в водной среде. Кроме того, прогресс в развитии нанотехнологий и наноматериалов требует того же. В то же время, метод МУРР (в отличие от классического РСА) еще молод, сложен и порой неоднозначен в интерпретации данных, и сам по себе требует на сегодняшнем этапе дальнейшего развития, вклада значительных интеллектуальных усилий. Диссертация Э.В.Штыковой действует одновременно на два фронта - с одной стороны применяет метод МУРР для решения важных и актуальных задач, а с другой стороны, совершенствует сам метод и определяет критерии его применимости и надежности. В цикле работ Э.В.Штыковой представлены результаты развития метода МУРР и исследованы как наноконпозиты, так и сложные биомолекулярные комплексы, в частности, предложены структурные модели (и алгоритмы поиска этих моделей), отражающие функциональные особенности биологических и супрамолекулярных синтетических ансамблей, в частности наночастиц серебра, золота, платины, магнетита, кобальта в составе самоорганизующихся полимеров, мицеллярных систем, пористых материалов, холестерических жидко-кристаллических ДНК. Необходимо подчеркнуть, что еще совсем недавно задачи такой сложности не решались.

Объем проведенных исследований и их аналитического осмысления огромен. Отметим лишь некоторые, на наш взгляд наиболее значимые результаты.

1. В отличие от РСА, метод МУРР не позволяет однозначно "автоматически" превращать экспериментальные данные в трехмерную структуру объекта. Здесь действует иной принцип, а именно необходимо сначала построить модель (или несколько моделей), после чего соотнести

экспериментальные параметры с ожидаемыми от данной модели (или нескольких альтернативных моделей). Э.В.Штыкова внесла в совершенствование этого принципа существенный вклад, что расширило возможности "восстановления" трехмерных структур полидисперсных и полиморфных нанообъектов по данным МУРР; здесь с успехом применялось компьютерное моделирование. Найденные алгоритмы и предложенные подходы расширяют возможности метода МУРР для применения другими исследователями к другим сложным объектам, как живым, так и неорганическим.

2. В стремлении использовать в максимальной степени экспериментальные данные, Э.В.Штыкова значительно продвинулась в интерпретации данных так называемого "аномального МУРР", который до представленного цикла исследований применялся относительно редко (из-за сложности проведения соответствующих экспериментов). Здесь, также были удачно предложены алгоритмы, позволяющие надежно проанализировать аномальный МУРР, предложить модели для правильной интерпретации полученных из эксперимента данных.

3. Необходимо отметить конкретные структурные исследования монодисперсных нанокompозитов. В этой области, предложенные подходы к интерпретации данных МУРР позволили определить условия стабильности ферромагнитных частиц в растворах, в том числе зависимость от состава и физических параметров полимерного покрытия. Эти результаты представляет значимую практическую ценность, они дают ключ для создания новых композиционных материалов, обладающих заранее заданными свойствами.

4. Горячей областью нанотехнологии является стабилизация квантовых точек. Хотя этим занимаются давно и широко, реальные результаты до сих пор оставляют желать лучшего, по-видимому, из-за "слепого" подхода к разработке стабилизирующих слоев, когда экспериментатор лишь констатирует факт неудачного результата, но не понимает его причин. Э.В.Штыкова изучала стабилизацию квантовых точек на основе CdS полипиридилфениленовыми дендримерами (PPPD) разной структуры. Применение метода МУРР позволило решить проблему выбора оптимальной структуры стабилизирующего слоя; была определена необычная структура PPPD и соответственно всего нанокompозита CdS/PPPD, стало понятным и минимально необходимое количество макромолекул PPPD для стабилизации CdS.

5. Та область нанотехнологии, которая занимается созданием молекулярных устройств, сконструированных из комплементарных фрагментов ДНК и ДНК-модифицированных молекул

и частиц, по-видимому, является наиболее многообещающей для выхода к чрезвычайно сложным конструктам, таким как молекулярные компьютеры. В диссертации Э.В.Штыковой исследованы конструкты на основе холестерических жидко-кристаллических дисперсий, сформированных из двухцепочечных молекул ДНК, в которые инкорпорированы различные гостевые молекулы, эти конструкты рассматриваются как перспективные для использования в противораковой терапии. Архитектуру этих особо сложно организованных конструктов изучать тяжело, но необходимо. Более того, здесь недопустимы даже малейшие неточности в определении структуры, так как на этом знании далее будет основываться "проектирование" еще более сложно организованных архитектур. С помощью компьютерного моделирования была подтверждена правильность предложенных ранее структурных моделей и снято противоречие между данными МУРР и данными по оптическим свойствам ДНК-конструктов.

6. В силу моих собственных интересов в области вируса гриппа, особенное внимание в рассмотрении диссертации я уделил результатам изучения матричного М1-белка вируса гриппа. Несмотря на многочисленные попытки, ни структура самого этого белка, ни его супрамолекулярные комплексы не были до конца поняты, в первую очередь из-за его лабильности и склонности к агрегации. Закристаллизовать этот белок невозможно, так как он формирует либо виросоподобную капсулу, либо безнадежно агрегирует. Автору удалось (для этого был задействован весь арсенал современных методов исследования и интерпретации данных МУРР) казалось бы невозможное - реконструировать М1-белок с разрешением ~ 1 нм, Более того, с помощью МУРР была разрешена структура виросоподобных частиц, которые образует в растворе (что особенно ценно) М1-белок сам по себе, без вспомоществования со стороны других белков. Автор пошел дальше - объяснил, каким образом гибкость С-концевого домена М1-белка обеспечивает его мультифункциональность, его роль посредника в многоступенчатом процессе формирования вируса гриппа и его функционирования внутри клетки-хозяина. Эти представления заставляют по-новому посмотреть на М1-белок как на мишень для новых терапевтических подходов: М1-белок как "цель" особенно привлекателен ввиду консервативности структуры, но в то же время эта цель и труднодоступна для иммунотерапии из-за маскировки М1-белка под липидной мембраной вирусной частицы. Новые взгляды на процесс фолдинга М1-белка и формирования им супрамера дают надежду найти нетривиальный терапевтик нового принципа действия для вируса гриппа.

Важная роль в диссертации Э.В.Штыковой отведена обзору литературы (276 ссылок). В первой его части автор дал теоретические и экспериментальные аспекты принципа и метода малоуглового рассеяния, описал современные методы обработки и, что особенно ценно,

принципы поиска алгоритмов интерпретации данных МУРР, особенности структурных исследований на лабораторных и синхротронных дифрактометрах с применением традиционного и аномального малоуглового рассеяния. Раздел, несмотря на безусловную сложность материала, написан понятным общедоступным языком. Для читателя, не специализирующегося в использовании МУРР, это огромная помощь, в результате которой читать собственно диссертацию стало значительно легче. Во второй части обзора литературы представлены данные о принципах формирования надмолекулярных комплексов, природных или искусственно созданных. Необходимость написания такого обзора в данной диссертации (объяснения, что такое "нано" и подобные материи) сомнительна, эту часть безболезненно можно было опустить.

Автореферат диссертации (44 страницы) с достаточной степенью полноты отражает содержание, смысл и дух диссертации, хорошо иллюстрирован, четко описывает цели проведенного цикла исследований, научную новизну работы, а также ее практические результаты - уже просматриваемые и перспективные.

Выводы диссертации написаны не очень гладко (подробнее см. ниже), но по сути отражают содержание работы, выделяют главные ее достижения и находки.

Научная новизна полученных результатов не вызывает сомнения и подтверждается большим количеством опубликованных автором статей.

Обобщая вышесказанное, следует заключить, что главная цель диссертационной работы успешно выполнена - автором серьезно и глубоко развит метод малоуглового рассеяния, проведен систематический анализ реалий и перспектив применения для разрешения таких сложных структур, как полидисперсные, полиморфные, разупорядоченные, а также биологические.

Необходимо подчеркнуть надежность полученных результатов, что кроме всего прочего достигается применением дополнительных, комплементарных методов структурных исследований. Еще раз напомним про неоднозначность решения задачи построения структуры объекта по данным МУРР, поэтому в диссертационном цикле использовались дополнительные методы структурного анализа, такие как динамическое светорассеяние, электронная и атомно-силовая микроскопии.

Диссертация написана профессиональным, но в то же время доступным для широкого круга специалистов языком, хорошо оформлена, рисунки всегда находятся на своем месте, иллюстрируя представляемый материал, трудно описываемый словесно, лишних картинок нет.

По материалам диссертации можно сделать следующие замечания:

1. Хотя по сути и смыслу раздел "Выводы" написан корректно, но по форме изложения далек от совершенства.

- Выводы слишком многословны, литературно не отточены, и из-за этого выглядят расплывчатыми, через них нужно "продираться" (хотя в "теле" диссертации и автореферата всё замечательно).
- Сбивает с толку слово "впервые". Логично предположить, что в тех выводах, где это слово отсутствует, приведенные результаты повторяют уже сделанное ранее; хотя на самом деле это не так. Лучше бы это "впервые" вообще не употреблять.
- В большинстве из 10 пунктов Выводов присутствует фраза о потенциальном применении полученного знания в будущем. Например, (вывод 5) *"Проведенные исследования необходимы для создания лекарственных форм при лечении онкологических заболеваний методом интерстициальной гипертермии"*. Такие фразы в разделе Выводы выглядят странными и неуместными. Лучше было бы написать дополнительный раздел "Перспективы применения" или просто "Заключение", где все это изложить.
- В выводе 8 находим: *"...на основании которых был сделан вывод, что..."*.
- В выводе 9 находим: *"В результате были получены новые знания о строении и функциональных особенностях исследованных биологических объектов и их связи с жизненно важными процессами в живой материи"*. Я бы с удовольствием позаимствовал эту совершенно справедливую фразу для заключительной части своей рецензии на диссертацию, но в качестве вывода такой текст не годится.

2. Из подписи к рисунку 1.10 сложно понять, являются ли кривые экспериментальными или теоретически рассчитанными.

3. Таблица 11 трудна для восприятия, необходимо было привести более детальное описание.

4. Как отмечалось выше, в качестве подтверждающих в данном исследовании применялись разнообразные альтернативные структурные методы. Описание их результатов как правило не приводится, а только констатируется, с приведением ссылок на соответствующую статью. Для читателя это неудобно, было бы правильнее привести используемые данные в явном виде.

Сделанные замечания, однако, не имеют принципиального характера, и несколько не влияют на общее безусловно положительное впечатление от проведенной работы - значительной по объему и глубокой по содержанию.

С учетом всего вышесказанное, делаем вывод, состоящий в том, что диссертационная работа Э.В.Штыковой выполнена на высоком профессиональном уровне и является законченным исследованием с критическим анализом результатов и научно обоснованными выводами. Актуальность проведенных исследований, научная новизна и практическая значимость результатов делает эту работу серьезным вкладом в развитие методов структурной химии, а также в исследование широкого круга конкретных сложных супрамолекулярных систем. Таким образом, представленная диссертационная работа удовлетворяет всем требованиям Постановления правительства Российской Федерации о порядке присуждения ученых степеней (от 24 сентября 2013 года N 842), предъявляемых к докторским диссертациям, а ее автор, Элеонора Владимировна Штыкова, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 01.04.18 – Кристаллография, физика кристаллов.

Официальный оппонент
доктор химических наук, профессор,
заведующий лабораторией углеводов
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биоорганической
химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
(ИБХ РАН)



Н. В. Бовин

117997, Российская Федерация, Москва,
ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10
Тел. (495) 330-7138
E-mail: professorbovin@yandex.ru

1 октября 2015 года

Подпись Н.В.Бовина удостоверяю,

Ученый секретарь ИБХ РАН, доктор физ.-мат. наук



В.А.Олейников