

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. первого проректора  
федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего  
образования «Московский  
педагогический

государственный университет»  
(МПГУ), академик РАО, доктор  
географических наук,  
профессор Дронов Виктор  
Павлович



« 21 » мая 2024 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

- федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский педагогический государственный университет» - на диссертационную работу **Можаевой Веры Александровны** «Методы спектроскопии комбинационного рассеяния света для идентификации белковых токсинов», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по научной специальности 1.3.19. Лазерная физика.

#### Актуальность темы.

Диссертация Можаева В.А. посвящена спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) белковых токсинов животных, а также змеиных ядов. Актуальность данной темы обеспечивается ее приложениями в области медицинской оптики.

Многие животные белковые токсины являются многообещающими кандидатами на роль лекарств. Определение структурных элементов токсинов, за счет которых реализуется их биологическое действие, дает возможность искусственно синтезировать молекулы подобной структуры. Методы, используемые в настоящее время для анализа структур белков (рентгеноструктурный анализ и спектроскопия ядерного магнитного резонанса), трудоемки и требуют достаточно большого количества токсинов. Таким образом, задача анализа структур белковых токсинов и создания их библиотек актуальна, в частности, в связи с разработкой новых лекарственных препаратов. Важной и актуальной задачей также является валидация структур искусственно-синтезированных токсинов.

Задача анализа змеиных ядов связана с разработкой и выбором эффективных противоядий и крайне актуальна. Доступность компактных КР спектрометров делает возможным проведение полевых исследований, что важно для работы в странах, где оснащение научных и медицинских лабораторий крайне ограничено и смертность от укусов змей высока.

Исходя из обозначенного выше, в данной работе была поставлена следующая основная **цель**: разработка метода анализа белковых токсинов животных и ядов змей на основе спектроскопии КР.

### **Содержание диссертации**

Диссертация содержит Введение, 5 Глав и Заключение. Работа изложена на 106 страницах, включает 35 рисунков и 11 таблиц, а также Список литературы, состоящий из 131 источника.

Во **Введении** даны общие сведения по тематике диссертационного исследования; обозначены цели и задачи исследования; подчеркивается актуальность, теоретическая и практическая значимость работы, научная новизна. Кратко описана методология. Обозначены положения, выносимые на защиту. Также обозначена степень достоверности результатов и приведена их апробация.

В **Главе 1 «Обзор литературы»** рассмотрены литературные и опытные данные по теме диссертации, касающиеся метода спектроскопии КР применительно к исследованию белков. Также описан ряд математических методов обработки спектральных данных. Рассмотрены некоторые белковые токсины, и примеры их анализа методом спектроскопии КР. Также дана характеристика ядам змей. В общем, в данной главе демонстрируется, что применение данной спектроскопической методики к исследованию токсинов является оправданным и КР спектроскопия – многообещающий метод для таких исследований.

Далее в **Главе 2** описана предлагаемая методика, основанная на спектроскопии КР и методе главных компонент (МГК), классификации и анализа белковых и пептидных токсинов, включая их дисульфидные изомеры. Подробно приведены методологические сведения о получении и анализе спектров. Проанализированы как широкие КР спектры образцов, так и отдельные спектральные регионы, характеризующие различные структурные особенности токсинов. Основным результатом работы, описанной в этой главе, состоит в разработке спектроскопической методики структурного анализа токсинов животных. Также показано, что на основе разработанной методики можно различать дисульфидные изомеры одного и того же пептидного токсина, а также фиксировать тонкие структурные различия близких по аминокислотной последовательности токсинов и их аналогов.

В **Главе 3** описывается применение спектроскопии КР для классификации, с помощью МГК и методов кластеризации, ядов змей различных видов из двух семейств. Подтверждается, что получаемая классификация отражает состав ядов. Основной результат работы, описанной в данной главе, заключается в разработке методики анализа цельных змеиных ядов на основе КР спектроскопии. Дополнительно показано, что обработка КР спектров образцов ядов змей различных видов, с помощью метода анализа дискриминантных функций (DFA), совмещенного с МГК, корректно разделяет образцы на две группы, соответствующие семействам змей Viperidae и Elapidae. Выявлены особенности составов ядов, характерные для каждого из семейств.

В **Главе 4** демонстрируется применение спектроскопия КР к изучению вариаций ядов змей одного вида: проанализированы яды отдельных особей гадюк Никольского. Выявлены и охарактеризованы с точки зрения состава различия спектров КР ядов гадюк Никольского двух разных популяций. Продемонстрированы и оценены внутривидовые (меж- и внутрипопуляционные) различия в составе ядов и проведено сравнение этих различий с межвидовыми. Продемонстрирована также пригодность разработанной спектроскопической методики для анализа яда отдельных особей змей.

В **Главе 5** проведено сравнение рекомбинантной версии подобного токсинам белка SLURP-1 с синтетической версией этого белка. Проанализированы «тирозиновый дублет», дисульфидный регион спектров, а также спектральные полосы, характеризующие вторичную структуру образцов. Продемонстрирована возможность спектроскопии КР фиксировать тонкие структурные различия крайне схожих (в том числе по аминокислотной последовательности) подобных токсинам белков.

В **Заключении** объединены основные выводы диссертации, а также рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

**Научная новизна** работы состоит в получении и анализе новых спектров КР конотоксинов моллюсков и некоторых других токсинов животных; также **впервые** предложена методика, основанная на спектроскопии КР (совмещенной с математическими методами обработки данных), классификации токсинов животных в соответствии с их структурными особенностями. Дополнительно, **впервые** продемонстрирована возможность различения дисульфидных изомеров конотоксинов.

Далее, автор **впервые** получила и проанализировала спектры КР цельных ядов различных змей. Предложена **новая** методика анализа и классификации змеиных ядов. **Впервые** проведен анализ ядов отдельных особей гадюки Никольского.

Можно заключить, что **новизна научных положений, выводов и рекомендаций**, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

**Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций,** сформулированных в диссертации, обеспечивается за счет использования качественной и современной приборной базы, применения подходящих экспериментальных методик и методов обработки полученных данных; анализом большого количества литературных данных по рассматриваемой тематике. Обоснованность положений, выводов и рекомендаций также подтверждена апробацией результатов диссертации.

**Значимость полученных автором диссертации результатов для развития физико-математических наук,** а конкретно, лазерной физики по направлению медицинская оптика и биотехнологии, состоит в разработке спектроскопического метода крайне экономичного экспресс-анализа новых токсинов с целью выявления потенциально наиболее перспективных кандидатов на роль лекарств на основе обнаружения структурных сходств с уже исследованными токсинами. Метод также позволит различать конфигурации дисульфидных связей, что **значимо** для обеспечения синтеза правильного изомера токсина, что важно для получения в необходимом для медицинских разработок количестве искусственного аналога токсина. Возможность метода видеть тонкие структурные различия токсинов может быть полезна при изучении влияния аминокислотных замен на их структуры, что важно при разработке препаратов на основе токсинов и оптимизации их лекарственных свойств. Значимость полученных в диссертации результатов для развития физико-математических наук (лазерной физики, технические вопросы медицинской оптики и биотехнологии) состоит также в разработке инструмента на основе КР спектроскопии анализа составов ядов змей для разработки и выбора противоядий для жертв укусов. Предложенный метод спектроскопического исследования ядов – первый шаг в разработке новых методов анализа ядов, учитывающих особенности их составов. Дополнительно, проведенный анализ спектров КР сложных многокомпонентных смесей, коими являются яды, **имеет значение** в области лазерной спектроскопии многокомпонентных веществ.

Можно дать следующие **конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов, приведенных в диссертации** в области медицинской оптики: на основе предложенного лазерного спектроскопического метода обеспечить анализ структур токсинов (и их искусственных аналогов) и создание библиотек спектров КР токсинов; рассмотреть применимость разработанного метода для оптической диагностики яда змей в биопробах (кровь, сыворотка).

**Достоверность** полученных результатов (выводов), научных положений и рекомендаций обеспечивается надежным экспериментальным оборудованием, воспроизводимостью экспериментальных данных, а также публикацией материалов работы в высокорейтинговых научных журналах и докладами на международных и всероссийских конференциях.

### **Апробация.**

Материалы диссертации достаточно полно опубликованы в работах автора. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в международных рецензируемых журналах, входящих в базы Web of Science и Scopus.

### **Замечания.**

1. В работе недостаточно полно описан метод главных компонент. Несмотря на оправданность его применения, более подробное описание метода упростило бы понимание данного подхода другими исследователями.
2. В ходе обработки результатов вычитание из различных спектров вычитались отличающиеся базовые линии, хоть и по одному принципу. Это могло оказать влияние на итоговую дифференциацию спектров по группам, поскольку отличия в вычитаемых базовых линиях могут приводить, в частности, к изменению отношений интенсивностей пиков комбинационного рассеяния.
3. Было бы полезно проверить воспроизводимость результатов. Будут ли отличаться данные, полученные в результате дополнительного измерения одного и того же образца, а также образца, полученного с той же особи в другой момент времени? Или с особей одного вида и одной популяции?

### **Заключение.**

Диссертация Можяевой Вера Александровны содержит ряд новых результатов и научных достижений. Результаты, представленные в диссертации, могут найти практическое применение в области медицинской оптики. Диссертационная работа была представлена на различных отечественных и зарубежных конференциях, ее результаты полностью отражены в 3 работах в международных рецензируемых журналах. Автореферат четко отражает содержание диссертации, а сам текст написан ясным языком, с четкими формулировками целей, результатов и логичными выводами.

Таким образом, диссертация Можяевой В.А. «Методы спектроскопии комбинационного рассеяния света для идентификации белковых токсинов» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи анализа белковых и пептидных токсинов животных на основе спектроскопии КР, имеющее существенное значение в медицинских приложениях: для разработки лекарств и противоядий. По своему содержанию и оформлению диссертация отвечает паспорту научной специальности 1.3.19. Лазерная физика.

Диссертационная работа Можяевой В.А. «Методы спектроскопии комбинационного рассеяния света для идентификации белковых токсинов» удовлетворяет также требованиям п.п. 9, 10, 11, 13, 14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от

