



Государственное научное учреждение  
Всероссийский научно-исследовательский институт  
ветеринарной вирусологии и микробиологии  
Российской академии сельскохозяйственных наук  
(ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии)

601125, Владимирская область, Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Академика Бакурова, стр. № 1  
Тел./факс: (4922) 37-92-51, 37-92-52, 37-92-53, тел.: 8 (49243) 6-21-25, 6-10-82  
e-mail: vniivvim@nii.vpetush.elcom.ru; www.vniivvim.ru

№ 498

от «05» апреля 2017 г.

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Зернова Антона Лаврентьевича «Микрочастицы из биосинтетических полиоксиалканоатов для пролонгированного высвобождения белков», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии)

Инкапсулирование разных материалов и живых клеток для различных целей в фармацевтической, химической и пищевой промышленности, также как в сельском хозяйстве и медицине, имеет важное значение. Это обусловлено тем, что заключенные в микрокапсулы вещества, а именно лекарственные средства, такие как антибиотики, ферменты, химиотерапевтические препараты остаются надолго защищенными от внешнего воздействия, тем самым сохраняя свои полезные свойства. Микрокапсулы используются как микроконтейнеры при разработке новых эффективных форм лекарств с пролонгированным и/или контролируемым высвобождением активных компонентов (белков, в том числе ферментов, пептидов, гормонов, различных антигенов, ДНК и т.д.). Благодаря возможности варьировать размер, структуру и физико-химические свойства микрокапсул, их можно применять в качестве систем доставки противоопухолевых и противомикробных препаратов, а также в генной терапии и тканевой инженерии. Поэтому работа А.Л. Зернова, посвященная созданию системы пролонгированного высвобождения белков на основе биосовместимых и биодеградируемых полимеров с сохранением их биологической активности является актуальной и своевременной.

Научная новизна работы не вызывает сомнений и состоит в том, что автором впервые использован для инкапсулирования белков биосинтетический блок-сополимер поли(3-гидроксибутират)-ко-поли(этилен гликоль); применение этого сополимера обеспечивает большую стабильность высвобождаемого белка по отношению к поли(3гидроксибутирату) в опытах *in vitro*.

А. Л. Зерновым в соавторстве разработаны оригинальные методики получения микрокапсул на основе поли-3-гидроксибутирата и его сополимеров и инкапсулирования в них белков.

Содержание материалов диссертационной работы достаточно полно отражено в публикациях автора. Диссертационная работа А. Л. Зернова выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровне.

Представленные автором в диссертационной работе полученные результаты хорошо и убедительно иллюстрированы, достоверны и не вызывают сомнения.

Результаты работы представляют научный и практический интерес и могут быть использованы в дальнейшем при разработке и конструировании лекарственных средств, а также тканеинженерных конструкций.

При рассмотрении работы, представленной в автореферате, возникли следующие вопросы:

- 1) Какие модельные физиологические условия соблюдались при высвобождении БСА из микрокапсул (стр.10)?
- 2) Чем обусловлен срок наблюдения цитотоксичности полученных микрочастиц (36 часов)?

Диссертация А. Л. Зернового является законченной научно - исследовательской работой; по актуальности, уровню проведенных исследований, новизне и практической значимости отвечает современным требованиям ВАК, а ее автор Зернов Антон Лаврентьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

5.04.17г.

ведущий научный сотрудник  
лаборатории Диагностики и мониторинга,  
доктор биологических наук, профессор,  
лауреат Государственной премии

  
В. И. Балышева

5.04.17г.

Подпись В.И. Балышевой ЗАВЕРЯЮ:

ученый секретарь ГНУ ВНИИВВИМ

Россельхозакадемии,

кандидат биологических наук



Е.А. Балашова

## Отзыв

### На диссертационную работу Зернова Антона Лаврентьевича «Микрочастицы из биосинтетических полиоксиалканоатов для пролонгированного высвобождения белков»

Работа Зернова А.Л., посвящена созданию и исследованию микрочастиц из биоразлагаемых и биосовместимых полимеров, представляющих собой систему доставки беловых препаратов. Данная тема является очень важной в современной биотехнологии, фармакологии и медицине. Действительно, применение таких систем пролонгированного высвобождения открывает большие перспективы для улучшения фармакологических показателей медицинских препаратов, по сравнению с традиционными лекарственными формами. Создание таких систем именно с белками является очень важной задачей, так как в последнее время в медицине возникает все большая востребованность в применении препаратов терапевтических белков: цитокинов, гормонов, факторов роста и дифференцировки, направленных для решения проблем тканевой инженерии, регенеративной медицины и фармакологии. Так как белковые макромолекулы имеют низкую устойчивость к физико-химическим воздействиям на них и могут быстро терять свою нативную структуру, утрачивая активность и вызывая иммунную реакцию. В данной же работе показано, что инкапсулированный модельный белок сохраняет свою нативную форму в течение длительного времени — до двух недель фермент сохраняет свою активность, а структура его не изменяется.

Применение в данной работе полиоксиалканоатов для создания микрочастиц пролонгированного высвобождения является удачным решением, так как в силу большой вариабельности физико-химических свойств данных полимеров, а также их сополимеров, становится возможным осуществление контроля за кинетикой высвобождения вещества из них. Так в работе показано, что при использовании в качестве носителя высокомолекулярного поли(3-гидроксибутирата) кинетика высвобождения характеризуется сильным начальным «взрывным высвобождением» с последующим постепенным выходом вещества в небольших количествах, необходимых для поддержания терапевтического эффекта, в то время как применение блок-сополимера поли(3-гидроксибутират)-поли(этилен гликоль) наоборот обеспечивает длительное поддержание постоянной концентрации инкапсулированного белка. Также не следует забывать о том, что полиоксиалканоаты обладают такими важными свойствами, как биосовместимость и биодеградируемость, что очень важно для создания новых терапевтических форм лекарственных препаратов.

Практическая значимость диссертационной работы Зернова А.Л. не вызывает сомнений. Выбранный модельный белок — лизоцим сходен по своим физико-химическим свойствам с большим количеством цитокинов и факторов роста. Поэтому такие результаты, как сохранение его стабильности в течение длительного времени, оптимизация кинетического профиля его высвобождения и биосовместимость полученных микрочастиц могут быть применены в дальнейшем уже при разработке полимерных систем пролонгированного высвобождения терапевтических белков.

Таким образом, за исключением некоторых орфографических и пунктуационных ошибок, не влияющих на общее положительное впечатление, я считаю данную работу достойной высокой оценки, а ее автора, Зернова Антона Лаврентьевича, присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук.

Зам.директора по науке  
ООО «НВЦ Агроветзащита»,  
доктор ветеринарных наук, профессор,  
заслуженный деятель науки Российской Федерации



ЗАМ. ГЕНЕРАЛЬНОГО ДИРЕКТОРА  
ПО УПРАВЛЕНИЮ ПЕРСОНАЛОМ  
КОЛДАЕВА М. В.

30.03.2014г.

Подпись Э.Х. Даугалиевой удостоверяю

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) Зернова Антона Лаврентьевича «Микрочастицы из биосинтетических полиоксиалканоатов для пролонгированного высвобождения белков».

Изучение свойств новых биоразлагаемых полимеров и создание на их основе систем депонирования биологически активных молекул, в том числе белков, является одним из важнейших направлений современной биотехнологии и медицины. Приоритетным развитием этого направления является создание систем с заданными характеристиками высвобождения и направленное изменение их свойств. Несомненно, в этом отношении диссертационная работа Зернова А.Л. является актуальной и полученные им результаты имеют практическую ценность, например, для создания и разработки систем пролонгированного высвобождения терапевтических белков, а именно: хемоаттрактантов, ростовых факторов, иммунологических адьювантов, гормонов и др. При этом, применение в данной работе нового сополимера поли(3-гидроксибутират)-ко-поли(этилен гликоля) позволило добиться сохранения стабильности инкапсулированных белковых макромолекул в течение длительного времени (до двух недель). Данное свойство используемого сополимера является важным параметром для белковых систем, так как молекулы белков обычно имеют низкую устойчивость к физико-химическим воздействиям и могут денатурировать с полной потерей активности.

В целом выполненное автором исследование производит впечатление высококвалифицированной работы. Содержание и оформление автореферата дают полное представление о большом объеме экспериментального материала. Выводы сформулированы лаконично и отвечают целям работы. Материалы исследований в полном объеме отражены публикациями в рецензируемых журналах и неоднократно докладывались на конференциях. Изложенное позволяет заключить, что представленная к защите диссертационная работа Зернова А.Л. является завершенным научным исследованием, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Старший научный сотрудник  
Лаборатории биологических микрочипов  
ИМБ РАН, к.х.н.

Рубина А. Ю.



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Зернова Антона Лаврентьевича** «Микрочастицы из биосинтетических полиоксиалканоатов для пролонгированного высвобождения белков», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Работа А. Л. Зернова посвящена разработке систем на основе полимерных микрочастиц, обеспечивающим пролонгированное высвобождение белков. Успехи современной биотехнологии позволяют создавать новые лекарственные препараты пролонгированного действия. При этом решаются проблемы низкой стабильности инкапсулируемых веществ и неэффективного расхода действующего начала. Особенно ярко это проявляется в случае применения белковых препаратов. При взаимодействии с окружающей средой белковые макромолекулы могут подвергаться протеолизу, различного рода денатурации и, вследствие этого, теряют свою ферментативную или иную целевую активность, а зачастую, могут становиться иммуногенными. Предложенный в данной работе способ инкапсулирования белков в полимерные микрочастицы позволяет нивелировать губительное влияние окружающей среды. При этом решается не только задача повышения стабильности белкового препарата, но и в первую очередь, создается форма, обеспечивающая его пролонгированное действие, из которой белок высвобождается в течение длительного времени. Такое сочетание является очень важным для решения задач как в области биомедицинских исследований (тканевая инженерия, пролонгированные формы гормонов и других терапевтических белков), так и в сфере современной сельскохозяйственной биотехнологии (создание новых форм гербицидных, инсектицидных, фунгицидных и рост-регулирующих препаратов).

Работа А. Л. Зернова является законченной оригинальной научно-исследовательской работой, выполненной на высоком методическом уровне, и посвящена актуальной научной теме.

В автореферате диссертации А. Л. Зернова детально изложены методы получения систем пролонгированного высвобождения модельных белков, исследования механизма этого процесса. Также автором показано, как путем изменения различных параметров возможно изменять кинетику процесса выхода инкапсулированного вещества.

Полученные диссидентом результаты могут быть использованы для создания новых форм отечественных белковых препаратов пролонгированного действия, которые могут найти широкое практическое применение.

Работа А.Л. Зернова отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения данной ученой степени по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Ведущий научный сотрудник-зав. лабораторией патофизиологии  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский  
институт фитопатологии», к.б.н.

Подпись рукой  
Л.А.Щербакова



Л.А.Щербакова