

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,

созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени доктора наук

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 30 сентября 2020 г. № 28
о присуждении **Капустину Дмитрию Валерьевичу**
ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «**Фторполимер- и полианилинсодержащие композиты как эффективный инструмент молекулярной биотехнологии**» по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 02.00.06 - высокомолекулярные соединения принята к защите 26.02.2020 г., протокол № 6, Диссертационным советом Д 002.019.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (адрес: 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10), и действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель, Капустин Дмитрий Валерьевич, гражданин РФ, 1967 г. рождения, в 2000 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук «Синтез композиционных сорбентов на основе фторированных полибутadiens для выделения нуклеиновых кислот» по специальности 02.00.06 - химия высокомолекулярных соединений - в диссертационном совете Д 063.41.05, созданном на базе Московской государственной академии тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова (диплом кандидата наук КТ № 032701), работает старшим научным сотрудником и выполнил диссертацию в лаборатории «Полимеры для биологии» Отдела биоматериалов и бионанотехнологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН).

Научный консультант – доктор химических наук Зубов Виталий Павлович, главный научный сотрудник лаборатории «Полимеры для биологии» Отдела биоматериалов и бионанотехнологий ИБХ РАН.

Официальные оппоненты:

Костров Сергей Викторович, чл.-корр. РАН, д.х.н., проф., директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук;

Ярославов Александр Анатольевич, чл.-корр. РАН, д.х.н., проф., заведующий Кафедрой высокомолекулярных соединений Химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ);

Лунин Владимир Глебович, д.б.н., проф., заведующий Лабораторией биологически активных наноструктур Отдела генетики и молекулярной биологии бактерий Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ («НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»)

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (РХТУ им. Д.И. Менделеева) в своем *положительном* заключении, подготовленном д.х.н. проф., заведующим Кафедрой биоматериалов Штильманом Михаилом Исааковичем и утвержденном проректором по науке, д.х.н., доцентом Щербиной Анной Анатольевной, указала, что диссертация является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема, имеющая важное хозяйственное значение для развития бионанотехнологий, основанных на применении новейших полимерсодержащих композиционных материалов, а также изложены новые научно обоснованные технологические решения по созданию таких композитов и по методологии их эффективного использования, а ее автор Капустин Дмитрий Валерьевич *заслуживает* присуждения искомой ученой степени доктора химических наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 02.00.06 - высокомолекулярные соединения (отзыв обсужден и одобрен на заседании Кафедры биоматериалов 31 августа 2020 г., протокол № 1).

На момент представления диссертации к защите Капустин Д.В. имел 36 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 27 работ общим объемом 34 печатных листа, опубликованных в рецензируемых отечественных и иностранных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки РФ для опубликования результатов диссертаций, из них – 3 обзора, 5 международных и 2 российских патента, 1 главу в монографии. Соискателем опубликовано 66 докладов на всероссийских и международных конференциях и симпозиумах. Капустин Д.В. является первым или последним автором в 19 работах, опубликованных по теме диссертации. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Наиболее значимые публикации из рецензируемых научных изданий:

1. E.Yu. Yagudaeva, M.R. Muydinov, **D.V. Kapustin**, V.P. Zubov. Oxidative polymerization of aniline on the surface of insoluble solid poly (sulfonic acids) as a method for the preparation of efficient bioadsorbents // *Russian Chemical Bulletin. International Edition*. - 2007. - V. 56(6). – P. 1166 - 1173. IF 1.014. Q4.
2. Zubov V.P., **Kapustin D.V.**, Generalova A.N., Yagudaeva E.Yu., Vikhrov A.A., Sizova S.V., Muydinov M.R. Modification of Solids with Polymer Nanolayers as a Process for Manufacture of Novel Biomaterials // *Polymer Science Series A*. – 2007. – V. 49(12). – P. 1247-1264. IF 0.984. Q4.
3. E.Yu. Yagudaeva, Ya.A. Bukina, A.I. Prostyakova, V.P. Zubov, V.A. Tverskoy, **D.V. Kapustin**. Oxidative Polymerization of Aniline on the Surface of Silica in the Presence of Poly(sulfonic acids) as a Method of Preparing Efficient Biosorbents // *Polymer Science, Series A*. - 2009. - V. 51(6). P. 675 – 682. IF 0.984. Q4.
4. **D.V. Kapustin**, A.I. Prostyakova, D.Yu. Ryazantcev, V.P. Zubov. Novel composite matrices modified with nanolayers of fluoropolymers as perspective materials for separation of biomolecules and bioanalysis // *Nanomedicine*. – 2011. - V. 6(2). - P. 241 - 255. IF 5.217. Q1.

5. **Kapustin D.**, Prostyakova A., Bryk Ya., Yagudaeva E., Zubov V. New Composite Materials Modified with Nano-Layers of Functionalized Polymers for Bioanalysis and Medical Diagnostics. In: Cuppoletti J. (Ed.) / *Nanocomposites and polymers with analytical methods*. – 2011. – Intech: Croatia. P. 83 - 106. DOI: 10.5772/1548 (WoS).
6. **Kapustin DV**, Prostyakova AI, Zubov VP. Fluoroplast-polyaniline-coated adsorbent for one-step isolation of DNA for PCR detection of viral hepatitis (HBV and TTV) // *Bioanalysis*. – 2014. – V. 6(7). – P. 957 – 966. IF 2.321. Q2.
7. E. Yu. Yagudaeva, D.-J. Liaw, A. A. Ischenko, V. N. Bagratashvili, V. P. Zubov, A. I. Prostyakova, D. Yu. Ryazantsev, A.P. Sviridov, **D.V. Kapustin**. New polyamide-containing sorbents for one-step isolation of DNA // *J. Material Science* – 2014. – V. 49. P. 3491 - 3496. IF 2.321. Q2.
8. **Д. В. Капустин**, А. И. Простякова, Я. И. Алексеев, Д. А. Варламов, В. П. Зубов, С. К. Завриев. Одностадийное выделение ДНК Mycobacterium tuberculosis на фторопласт-полианилинсодержащем сорбенте для ПЦР-диагностики // *Acta Naturae*. – 2014. – V. 6 № 2 (21). - С. 6 - 10. IF 1.657. Q4.
9. Der-Jang Liaw, Elena Yagudaeva, Anna Prostyakova, Michael Lazov, Dmitry Zybin, Anatoly Ischenko, Vitaly Zubov, Cheng-Hung Chang, Ying-Chi Huang, **Dmitry Kapustin**. Sorption behavior of polyaramides in relation to isolation of nucleic acids and proteins // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2016. – V. 145. – P. 912 - 921. IF 3.973. Q1.
10. Elena Yagudaeva, Dmitry Zybin, Alexander Vikhrov, Anna Prostyakova, Anatoly Ischenko, Vitaly Zubov, **Dmitry Kapustin**. Sorption of nucleic acids and proteins on polyaniline and polyaramide nano-coatings as studied with spectral-correlation interferometry method in a real time mode. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2018. – V. 163. – P. 83 - 90. IF 3.973. Q1.
11. Д.-Дж. Льяо, Д.И. Зыбин, А.И. Простякова, Е.Ю. Ягудаева, А.А. Вихров, А.А. Ищенко, В.П. Зубов, **Д.В. Капустин**. Статическая и динамическая сорбция нуклеиновых кислот и белков на поверхности сорбентов, модифицированных нанотолщинными слоями полимеров // *Известия ВУЗов. Химия и химическая технология*. – 2018. - Т. 61(1). С. 4 - 22. ИФ 0.403.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв официального оппонента чл.-корр. РАН Кострова С.В. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: «Возможно, было бы целесообразным изменить порядок изложения материала и в первую очередь представить разработанные методы синтеза композитов, а затем главу, посвященную исследованию сорбционных свойств полученных материалов. В подразделе, относящемся к выделению ДНК из образцов почв, не приведено сравнение с существующими методиками по выделению нуклеиновых кислот из почв по эффективности выделения (выход нуклеиновой кислоты, затрачиваемое время, чистота). В заключении диссертации было бы уместным привести хотя бы предварительную оценку экономического эффекта от возможного внедрения разработанных композитов (в частности, сравнить себестоимость производства наборов, включающих разработанные мини-колонки, с существующими на рынке диагностическими наборами)».

2. Отзыв официального оппонента чл.-корр. РАН Ярославова А.А. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: «В диссертации было бы уместно дать сравнительную оценку эффекта от использования разработанных композитов/биосепарирующих элементов и существующих на рынке диагностических систем (например, по себестоимости использованных материалов). При обсуждении результатов выделения ДНК из образцов почв не приведены исчерпывающие характеристики использованных образцов и не дана сравнительная оценка эффективности выделения с помощью разработанной автором системы по сравнению с существующими

протоколами. В работе следовало подробнее остановиться на чувствительности разработанного автором метода (минимальной концентрации детектируемого вещества)».

3. Отзыв официального оппонента д.б.н. проф. Лунина В.Г. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: «Перед обсуждением областей применения разработанных материалов и биосепарирующих элементов было бы не лишним провести оценку себестоимости материалов, входящих в состав разработанных диссертантом наборов, по сравнению с диагностическими системами, представленными на рынке. При обсуждении результатов выделения тотальной почвенной ДНК не приведены точные характеристики использованных образцов почвы; также не проведена сравнительная оценка эффективности выделения с помощью разработанной автором системы и с помощью известных коммерческих протоколов. В тексте диссертации встречаются опечатки, которые, впрочем, не искажают смысла изложенного материала и не приводят к неверным толкованиям».

4. Отзыв ведущей организации, отзыв положительный, содержит следующие замечания: Представляется уместным привести сравнительную оценку себестоимости мини-колонок с разработанными диссертантом сорбентами с представленными на рынке диагностическими наборами. В тексте диссертации встречаются опечатки. Некоторые ссылки на URL-адреса в списке литературы не являются активными.

5. Отзыв на автореферат д.х.н. проф. Лисичкина Георгия Васильевича – заведующего Лабораторией химии поверхности Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: «В автореферате не вполне верно употреблен термин «полиальгинатные частицы», поскольку альгинаты (соли альгиновой кислоты) сами по себе являются полимерами. Кроме того, из текста не ясно, в результате применения какого из компонентов биосепарирующего элемента – анилинсодержащего сорбента или альгинатных частиц – удалось достичь количественного удерживания фракций гуминовых веществ».

6. Отзыв на автореферат д.б.н. проф. Солонина Александра Сергеевича – руководителя Лаборатории молекулярной микробиологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН. Отзыв положительный, без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обоснован их достижениями в области биотехнологии и химии высокомолекулярных соединений, что подтверждено значительным числом публикаций в ведущих российских и международных научных изданиях. РХТУ им. Д.И. Менделеева является признанным лидером в разработке научных основ для получения новых полимерных и полимерсодержащих материалов, применяемых в области биомедицины. Костров С.В. является признанным специалистом в области фундаментальных основ биотехнологии, биохимии и белковой инженерии. Ярославов А.А. известен новаторскими работами в области синтеза и модификации полимеров, исследованиями механизмов их взаимодействия с коллоидными дисперсиями и биообъектами, а также разработками в области медицины и биоаналитики. Лунин В.Г. известен разработкой ряда эффективных

систем, основанных на принципах молекулярного дизайна, применяемых в генной инженерии и молекулярной диагностике.

Высокая квалификация в перечисленных областях позволяет им объективно судить о научной новизне, о теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований: *предложен и практически реализован принцип* одностадийного выделения ДНК из биологических образцов; *разработаны научные основы* получения и практического применения композитов, содержащих полимеры, демонстрирующие обнаруженный эффект, в различных областях биотехнологии, в частности, в молекулярной диагностике; *предложены инновационные технологические способы* получения указанных композитов, в частности, основанные на локализации процесса полимеризации на активированной различными способами поверхности носителя; *разработаны* воспроизводимые технологические методы синтеза наноструктурированных полимерсодержащих композитов на основе дисперсных частиц, мультикапилляров, мембран и др., обеспечивающих одностадийное выделение нуклеиновых кислот из биологических смесей с возможностью последующего выделения компонентов белковой фракции; *разработаны* оптимальные конструкции биосепарирующих элементов (спин-картриджи, мультикапиллярные наконечники, мембранные сорбенты и др.), включающие разработанные композиты, а также протоколы, обеспечивающие одностадийное выделение нуклеиновых кислот из проб, различающихся по происхождению (вирусы, прокариоты, эукариоты), типу пробы (бактериальные культуры, биологические жидкости, ткани грибов, растений и животных, почвенные экстракты, пищевые продукты и др.) и способу подготовки пробы к исследованию; *разработаны* новые композитные носители для очистки ПЦР-фрагментов, синтеза фрагментов нуклеиновых кислот, разделения смесей белков, эффективной экстракции производных витаминов из крови, а также инновационные композитные носители для масс-спектрометрии.

Теоретическая значимость исследования подтверждена тем, что: *впервые обнаружен эффект* количественной дифференцировки нуклеиновых кислот и белков (и других компонентов биологических смесей) в процессе адсорбции на полимерах определенной структуры, *и объяснена природа эффекта*; разработаны научные принципы создания наноструктурированных полимерсодержащих систем для одностадийного выделения ДНК из биологических образцов, основанные на знании механизма окислительной осадительной полимеризации анилина и факторов, определяющих сорбционные свойства поверхности полианилиновых покрытий.

Практическая значимость полученных соискателем результатов подтверждена целым рядом применений. В частности, запатентованы способы получения и применения полимерсодержащих сорбентов для одностадийного выделения ДНК из различных источников (патенты США: US 2006/243658 A1, US 7018538 B2, US 2008/0015341A1; US 7772152 B2, патенты РФ № 2547597, № 2631934 C1). Разработаны воспроизводимые протоколы одностадийного выделения ДНК из различных источников (включая лизаты растительных тканей, кровь человека и животных), пригодных для непосредственного использования в ПЦР-анализе. Изготовлены партии фторполимер- и

полианилинсодержащих сорбентов. Разработаны протоколы одностадийного выделения ДНК различного происхождения (вирусная, бактериальная, низших грибов, растительная, животных, человека) из различных источников (лизаты растительной ткани, кровь, мокрота, урогенитальные мазки, пищевые продукты, пробы воздуха и воды, почва). Разработанные протоколы одностадийного выделения ДНК возбудителей гепатита В, бактериальных и грибковых урогенитальных инфекций и туберкулеза человека и др. успешно апробированы в лабораторных условиях в НМИЦ Гематологии, ЗАО «НПФ Синтол» (г. Москва), ООО «НПФ ГенЛаб» (г. Москва), ФКУЗ «МИКРОБ», г. Саратов). Разработаны регламенты на опытное производство композиционного сорбента Si-500-ФП-ПАНИ и мембранного сорбента МФК-ПАНИ для одностадийного выделения ДНК из клинических проб. Получен и успешно апробирован в лаборатории компании Prologo GmbH (Германия) модифицированный фторполимером композиционный носитель для твердофазного синтеза олигонуклеотидов. Разработан колоночный вариант ВЭЖХ-разделения белковых/пептидных смесей с использованием полианилинсодержащего сорбента в рН-градиенте без добавления органического компонента в подвижную фазу. Разработан способ одновременного выделения производных девяти витаминов (водо- и жирорастворимых) из одного образца крови человека с использованием кремнеземного сорбента с фторопластовым покрытием для ВЭЖХ-анализа содержания производных витаминов в крови. Запатентован способ модифицирования кремниевых пластин сополимерами анилина с замещенными анилинами и их использование в качестве рабочих тел для масс-спектрометрии в формате SELDI-TOF-MS без добавления «вещества-матрицы» (патент WO 2011004308 A1).

Предложенные в диссертации методы, подходы и полученные результаты целесообразно использовать в качестве компонентов наборов для клинико-диагностических лабораторий, НИИ биомедицинского и биотехнологического профиля. Их можно рекомендовать при чтении лекций и проведении студенческих практикумов на профильных кафедрах университетов и институтов.

При оценке достоверности результатов диссертации выявлено, что идея исследования основана на междисциплинарном подходе, объединившем методы синтеза многокомпонентных материалов (содержащих полимеры) и биотехнологические методы их применения, а также на комплексном анализе свойств полученных материалов и включающих их устройств. Теоретическая база работы соответствует основным современным научным концепциям. Исследования выполнены на высоком экспериментальном уровне с использованием современного сертифицированного оборудования и комплекса высокочувствительных инструментальных физико-химических и медико-биологических методов анализа.

Личный вклад соискателя является решающим и состоит в активном участии на всех этапах - от выбора направления, постановки задач, планирования и проведения исследований - до интерпретации, обобщения и внедрения результатов, подготовки и публикации их в научных изданиях. Экспериментальный материал получен лично автором или под его руководством, за исключением экспериментов по ПЦР-диагностике возбудителей опасных заболеваний, проведенных, соответственно, в ФБУН ЦНИИ

Эпидемиологии, ЗАО «НПФ Синтол», ФКУЗ «МИКРОБ»; по исследованию «матричной» активности полимер-модифицированных пластин в масс-спектрометрии, проведенных в лаборатории Dr. P.K. Bachmann (Philips Technologie GmbH, Германия), и по тестированию фторполимерсодержащих носителей для твердофазного синтеза олигонуклеотидов, проведенных в лаборатории Dr. A. Wolter (Proligo Biochemie GmbH, Германия).

Сформулированные соискателем научные положения и выводы обоснованы и не вызывают сомнений.

Диссертационный совет Д 002.019.01 заключил, что диссертационная работа Капустина Дмитрия Валерьевича является законченной научно-квалификационной работой как в области биотехнологии, так и в области химии высокомолекулярных соединений, в которой решена научная проблема, имеющая важное хозяйственное значение для развития бионанотехнологий, в частности, молекулярной диагностики с применением полимерсодержащих композитов с комплексом особых свойств, а также изложены новые научно обоснованные технологические решения по созданию таких композитов и по методологии их использования в биотехнологических целях. По своему содержанию работа соответствует паспорту специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в части 1, 4 и 8, а также специальности 02.00.06 – высокомолекулярные соединения в части 4, 5 и 9. По актуальности, новизне, уровню изложения, теоретическому и практическому значению диссертация Д.В.Капустина полностью соответствуют всем требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

На заседании 30 сентября 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Капустину Дмитрию Валерьевичу ученую степень доктора химических наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 02.00.06 - высокомолекулярные соединения.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 25 чел., из них 7 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 5 докторов наук по специальности 02.00.06 – высокомолекулярные соединения), участвовавших в заседании, из 35 чел., входящих в состав совета (дополнительно введены на разовую защиту 5 докторов наук по специальности 02.00.06 – высокомолекулярные соединения), проголосовали: за - 23, против - 1, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

Ученый секретарь диссертационного совета
д.ф.-м.н.
30 сентября 2020 г.



В.Т. Иванов

В.А. Олейников