

000528

ФАНО РОССИИ

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки

Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук
(ИБХФ РАН)

Косыгина ул., д. 4, Москва, 119334,
Тел.: (499) 137-64-20, факс: (499) 137-41-01
E-mail:ibcp@sky.chph.ras.ru

ОКПО 40241274, ОГРН 1037739274308

ИНН/КПП 7736043895/773601001

на № 25-11-16 от № 12113-6215/521

“УТВЕРЖДАЮ”

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук,
д.х.н., проф.



И.И. Курочкин

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Сотникова Дмитрия Васильевича
“Определение специфических антител методом иммунохроматографии:
количественные закономерности и практические приложения”,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 03.01.04 Биохимия

Диссертационная работа Д.В. Сотникова посвящена изучению закономерностей функционирования иммунохроматографических тест-систем для определения специфических антител в крови (серодиагностики). Данный тип систем наиболее эффективно решает задачи массовых скрининговых обследований вследствие методической простоты проведения анализа, его низкой стоимости и возможности применения иммунохроматографических тест-систем непосредственно на месте отбора проб. На сегодняшний день общая теория функционирования таких систем не разработана, вследствие чего разработка каждого нового вида тест-систем сопряжена со значительным объемом экспериментальной работы по варьированию многих параметров.

обеспечивающему возможность выбора оптимальной комплектации и условий проведения анализа.

Исходя из сложившейся ситуации, целью диссертационной работы Д.В. Сотникова являлось изучение факторов, влияющих на аналитические параметры систем иммунохроматографической серодиагностики, математическое описание данных систем и применение установленных закономерностей для повышения чувствительности серодиагностики. Исходя из вышеизложенного, не вызывает сомнения **актуальность избранной темы** работы.

Подготовленная диссертация и публикации по теме работы свидетельствуют об успешном решении поставленных задач. Новые теоретические модели иммунохроматографической серодиагностики, предложенные в диссертационной работе Д.В. Сотникова, обеспечивают возможность прогнозирования общих закономерностей функционирования иммунохроматографических серодиагностических тест-систем и существенного упрощения процессов их разработки.

Представленная к защите диссертация Д.В. Сотникова построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения и списка литературы (190 ссылок). Работа изложена на 150 страницах, иллюстративный материал включает 56 рисунков и 8 таблиц.

В разделе «Обзор литературы» рассматриваются принципы функционирования иммунохроматографических тест-систем. Особое внимание уделяется вопросам получения и характеристики конъюгатов маркера (коллоидного золота) с биорецепторными молекулами. Обсуждаются существующие математические модели иммунохроматографического анализа и ограничения их применения. Подробно рассматривается регистрация поверхностного плазмонного резонанса как средство количественной характеристики межмолекулярных взаимодействий. Далее приводится анализ современного состояния диагностики инфекционных заболеваний, для которых в рамках диссертационной работы разрабатывались диагностические средства: легочного туберкулеза людей и бруцеллеза крупного рогатого скота.

Проведенный диссертантом анализ литературы корректен и логичен, в полной мере отражает результаты исследований последних лет и формирует необходимую базу для планирования теоретических и экспериментальных работ и интерпретации полученных результатов.

Раздел «Материалы и методы» содержит подробное изложение использованных в работе методик, как традиционных, так и являющихся собственными разработками диссертанта. Следует отметить разнообразие использованного методического инструментария, его соответствие поставленным задачам и возможностям современной биохимии. В работе использованы методы просвечивающей электронной микроскопии, спектрофотометрии, флуориметрии, биосенсорного определения кинетических и равновесных констант связывания на основе регистрации поверхностного плазмонного резонанса, иммуноферментного анализа, иммунохроматографического анализа, видеоцифровой обработки изображений. Отметим также владение диссертантом методами математического моделирования кинетики межмолекулярных взаимодействий. Использование всех вышеперечисленных подходов позволяет Д.В. Сотникову получать корректные результаты, значимые для достижения поставленной цели.

В разделе «Результаты и обсуждение» описаны полученные автором экспериментальные результаты, дается их интерпретация и обобщение. Приводятся сведения о характеристике состава и активности конъюгатов коллоидного золота с различными белками. Эти величины были установлены с использованием разработанных диссертантом методик, основанных на методах флуоресцентной спектроскопии и иммуноферментного анализа. Рассматриваются разные схемы проведения иммунохроматографической серодиагностики, даются их математические описания, результаты разработки и апробации.

Эксперименты, представленные в диссертационной работе, логично спланированы и находятся в соответствии с поставленными целями и задачами. Результаты четко изложены и корректно интерпретированы. Не вызывает сомнения обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций,

сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна, обеспечиваемая корректным выбором используемых методов, применяемыми средствами статистического анализа получаемых закономерностей, использованием результатов детального анализа литературных данных при построении моделей и их интерпретации.

Несомненна значимость полученных автором диссертации результатов для развития биохимии. Д.В. Сотниковым в полной мере решены все поставленные в работе задачи. Проведено подробное исследование состава и свойств белковых конюгатов коллоидного золота – основного маркера иммунохроматографических тест-систем. Предложены новые методики определения количества рецепторных молекул и степени сохранения их функциональной активности после иммобилизации на коллоидном золоте. Получена важная информация о механизмах иммобилизации белковых молекул на поверхности частиц коллоидного золота при различных значениях pH. Предложены оригинальные варианты проведения иммунохроматографической серодиагностики, отличающиеся от традиционных составом детектируемых иммунных комплексов и порядком их формирования. Разработаны и проанализированы математические описания иммунохроматографических серодиагностических систем. На примерах решения двух задач серодиагностики – выявления антител к возбудителям туберкулеза и бруцеллеза – экспериментально подтверждена эффективность рекомендаций, следующих из рассмотрения теоретических моделей.

Ценность проведенной работы для науки и практики заключается в создании методического аппарата, обеспечивающего улучшение аналитических характеристик иммунохроматографических серодиагностических систем. В ходе выполнения работы на основе установленных закономерностей предложены новые, более эффективные системы серодиагностики экономически и социально значимых инфекционных заболеваний: легочного туберкулеза людей и бруцеллеза крупного рогатого скота. Универсальность разработанного теоретического аппарата определяет **пути использования результатов диссертационной работы,** заключающиеся в их применении для повышения

эффективности процедур разработки и достижения более высоких аналитических характеристик иммунохроматографических систем серодиагностики других заболеваний.

В целом работа выполнена на высоком профессиональном уровне, с использованием современных методов. Исследование хорошо спланировано и четко направлено на решение поставленных задач. Полученные результаты подробно изложены и корректно интерпретированы. Выводы логично вытекают из экспериментальных данных. Рецензируемая работа является законченным исследованием, обладающим несомненной новизной, существенной научной и практической значимостью. Содержание работы в полной степени соответствует специальности 03.01.04 Биохимия.

В автореферате диссертации Д.В. Сотникова представлены основные идеи и выводы диссертации, показан вклад автора в проведенное исследование, охарактеризована степень новизны и практическая значимость приведенных результатов исследований. Автореферат диссертации с достаточной степенью полноты отражает содержание проведенной работы, корректно описывает проведенные исследования и полученные результаты. В автореферате приведены все необходимые сведения об организации, в которой выполнялась диссертация, диссертанте, его научных руководителях, оппонентах и ведущей организации. Представлен список публикаций автора диссертации, в которых отражены основные научные результаты диссертации.

Опубликование основных результатов исследования в научной печати соответствует требованиям ВАК. По материалам диссертационной работы опубликовано 11 статей в российских и иностранных журналах, а также 5 тезисов научных конференций, на которых представлялась работа. Получено 7 патентов на изобретения (5 – Российской Федерации и 2 – Республики Казахстан), предложенные в ходе выполнения диссертационной работы и отражающие новые подходы в иммунохроматографической диагностике. Автореферат и публикации в полной степени представляют проведенное исследование и полученные диссертантом результаты.

При ознакомлении с диссертацией возникли некоторые частные замечания и вопросы, не влияющие на ее общую положительную оценку.

1. Диссертант резонно отмечает в литературном обзоре разнообразие бруцелл и значительную степень видоспецифичности вызываемых ими заболеваний. Однако из рассмотрения тест-системы для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, непосредственно разработанной диссертантом, остается неясным: применима ли она для диагностики бруцеллеза других животных.
2. Диссертант выделяет два участка на кривых Скетчарда, для которых определяются равновесные константы диссоциации. При этом остается неясным, как может интерпретироваться наличие двух констант взаимодействия: происходят ли при изменении поверхностной плотности сорбированных белков какие-либо изменения их структуры и ориентации или же в ходе сорбции последовательно формируется несколько субпопуляций белковых молекул, взаимодействующих с поверхностью коллоидного золота с разными константами.
3. Из рассмотрения предлагаемой им модели автор работы отмечает, что общепринятое для иммунохроматографической серодиагностики 2-4-кратное разведение проб сывороток (крови) недостаточно для высокочувствительной детекции специфических антител к целевому антигену, и предлагает использовать существенно большие разведения - в сто и более раз. Однако из текста диссертации остается неясным, как определить разведение, оптимальное для решения той или иной диагностической задачи. От каких параметров это разведение зависит? Как методически можно осуществить такое разбавление без усложнения процедуры анализа?

Вышеизложенные замечания носят частный характер, не снижают общую положительную оценку работы и не влияют на обоснованность выносимых на защиту положений.

В рамках обеспечения возможностей для дальнейшего использования результатов диссертационной работы рекомендуется направить ее материалы в такие научные организации, как Биологический и химический факультеты Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,

Приволжский (Казанский) федеральный университет, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН, Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАН, Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза.

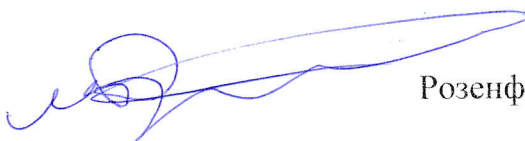
Д.В. Сотниковым выполнена научно-квалификационная работа, в которой, в соответствии с требованиями п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемыми к кандидатским диссертациям, **содержится решение задачи, имеющей существенное значение для развития биохимии:** разработан теоретический аппарат описывающий процессы иммунохроматографической серодиагностики, и экспериментально подтверждена его эффективность.

Диссертация Дмитрия Васильевича Сотникова по теме «Определение специфических антител методом иммунохроматографии: количественные закономерности и практические приложения» по актуальности темы, объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов является законченной работой высокого теоретического и экспериментального уровня. Диссертационная работа Д.В. Сотникова **полностью соответствует требованиям, которые установлены для кандидатских диссертаций «Положением о порядке присуждения ученых степеней»**, утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335), а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Отзыв обсужден и одобрен в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук на совместном семинаре лаборатории термодинамики биосистем, лаборатории нейрoхимии и лаборатории биосенсорных технологий

на чипе, основное направление научно-исследовательской деятельности которых соответствует тематике диссертации (протокол № 17 от 21 ноября 2016 г.).

Заведующий лабораторией термодинамики биосистем
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук,
доктор биологических наук (специальность 03.01.02 Биофизика),
профессор по специальности Биофизика



Розенфельд Марк Александрович

Почтовый адрес: 117292, Москва, ул. Профсоюзная, д. 8, корп. 2, кв. 374

Телефон: 89104428200.

Адрес электронной почты: markrosenfeld@rambler.ru

