

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Анатолия Виталиевича Жердева «Иммунохроматографические системы: молекулярные закономерности функционирования и практические приложения», представленную в виде научного доклада на соискание учёной степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

В начале 2000-х годов достаточно четко обозначился положительный тренд в развитии высокочувствительных и, одновременно быстродействующих и экономически привлекательных, биоаналитических систем для определения химических и биологических агентов, определяющих состояние окружающей среды, качество продуктов промышленного производства и безопасное существование человека, животных и растений. В этом отношении весьма привлекательно выглядят достижения в области создания новых иммуноаналитических систем и, в частности, иммунохроматографии. Уже сейчас иммунохроматография эффективно объединяет исключительную простоту и скорость проведения анализа. Вместе с тем, остаются проблемы существенного снижения пределов обнаружения аналитов, реализации мультиплексных форматов проведения анализа, перевода иммунохроматографической методики в разряд количественных. Для успешного решения перечисленных выше проблем необходимо создать основательный фундаментальный базис, описывающий иммунохимические и иные специфические взаимодействия при проведении иммунохроматографического анализа, включая всю совокупность гомогенных и гетерогенных реакций в проточном режиме с разнообразной пространственной локализацией реагентов.

Учитывая сказанное выше, можно утверждать, что тема диссертационной работы Анатолия Виталиевича Жердева «Иммунохроматографические системы: молекулярные закономерности функционирования и практические приложения» представляется вполне актуальной и направлена на решение одной из важнейших задач развития аналитических и молекулярно-диагностических средств.

В соответствии с выбранной темой соискатель исследовал закономерности взаимодействия антиген-антитело при проведении иммунохроматографии и на этой основе проводил разработку новых аналитических систем. В рамках диссертационной работы были сформулированы и решены следующие задачи:

- экспериментальная характеристика способов измерения параметров комплексообразования антиген-антитело;
- описание взаимодействий в иммуноаналитических системах и классификация этих систем;
- теоретическое описание процессов образования комплексов разного состава с участием нативных и модифицированных иммунореагентов;
- характеристика гетерогенных иммуноаналитических систем и способов преодоления их ограничений, определяемых диффузионно-контролируемыми реакциями;
- применение установленных закономерностей взаимодействий антиген-антитело для разработки иммунохроматографических систем с низкими пределами обнаружения и высокой производительностью;
- характеристика эффективности разработанных способов проведения иммунохроматографии при обнаружении и определении содержания соединений разных классов.

Диссертация в форме научного доклада содержит 7 глав, посвященных решению упомянутых выше задач. Кроме того, работа содержит введение, заключение, список литературы, содержащий ссылки на 112 источников, список научных публикаций, в которых изложены основные научные результаты диссертации (120 работ), список патентов, полученных по результатам диссертационного исследования (25 патентов) и благодарности. Всего 112 страниц.

Введение посвящено обоснованию выбора темы исследования, актуальности работы, оценке степени разработанности темы, формулировке цели, задач, методологии и методам исследования. Во введении также

формулируется научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, степень достоверности результатов, личный вклад автора, структура работы, описание публикаций по теме работы, связь работы с государственными программами и апробация достигнутых результатов. Эта часть работы написано четко и ясно, содержит информативный иллюстрационный материал и убеждает в том, что исследования А.В. Жердева пришлись на самый интенсивный период развития иммунохроматографических методов.

Анализ раздела **Основное содержание работы** (7 глав) позволяет сделать заключение, что автором проведено широкое исследование иммунохроматографических систем, проведена оценка перспектив их аналитического применения, выявлены закономерности иммунных взаимодействий в условиях иммунохроматографического процесса, использование адекватных формально-кинетических моделей позволило предложить способы управления количеством и кинетикой образования выявляемых иммунных комплексов.

Потрясает общее количество разработанных автором уникальных иммунохроматографических систем – 65 !!! Для каждой системы была проведена оптимизация аналитического формата проведения анализа, получены соответствующие иммунореагенты, получены другие компоненты процесса проведения анализа. Охвачен широчайший круг аналитов: пробы бытовых и сточных вод, антибиотики и бактериостатики, пищевые красители, фитотоксины, пробы рыбы и морепродуктов, психоактивные вещества, кардиомаркеры, маркеры воспаления, белковые маркеры, антитела, бактериальные патогены человека и животных, вирусные и бактериальные патогены растений. Созданы новые модификации иммунохроматографического анализа – «мульти трековый» и «тревожный». Охарактеризованы возможности видеоцифровой регистрации результатов иммунохроматографии. Проведена колоссальная по объему и высочайшего уровня по квалификации научная работа.

Важной особенностью работы Анатолия Виталиевича является постоянная направленность на выявление общих закономерностей реакций в ходе иммунохроматографии. Именно для этого им используются методы математического моделирования и построение разнообразных моделей, которые я бы отнес к разряду формально-кинетических. Для моделирования такого рода необходимо знать или измерять ряд физико-химических параметров – константы равновесия, кинетические константы, концентрации мест специфического взаимодействия, коэффициенты диффузии и т.п.. Эту особенность следует рассматривать как исключительно позитивный фактор. Но парадокс в том, что именно к этой части или этим частям работы у меня возникает наибольшее количество вопросов, связанных с обоснованностью или оригинальностью моделей и выкладок.

Так на Рис 7 (стр.28) приведена гистограмма распределения сил взаимодействия антител с вирусом на подложке. Какую ценную информацию дают эти данные? Условия измерения сил сильно отличаются от взаимодействия в реальных образцах. Разве это можно пересчитать в реальные константы?

Таблица 2 (стр. 29) – чем объяснить такой немонотонный, скорее хаотичный, характер изменения измеряемой константы при изменении мольного соотношения антитело:частица?

Глава 2 (стр. 41) – из текста диссертации и статей автора не виден какой именно комплекс математических моделей был разработан.

Глава 3 (стр.44) – при обсуждении процессов образования полислоев белковых глобул на поверхности НЧ золота как-то размыт вопрос о причинах (механизме) образования нескольких слоев белковых молекул. Так данные Рис.18 и табл.2 не соответствуют друг другу. Так для БСА данные таблицы 2 говорят о том, что там и одного слоя не образуется. За счет чего отрицательно заряженная молекула БСА взаимодействует поверхностью наночастиц золота? Нет объяснения того, почему при связывании антител максимум приходится на величины рН, близкие к изоэлектрической точке антител, а связывание при

pH 10 больше, чем при pH 4-5. Кроме того, учитывая соизмеримость размеров молекул антител и наночастиц необходимо рассматривать и поликомплексы, содержащие несколько наночастиц.

При описании конкурентного иммуноанализа и оценке теоретических ограничений и аналитических параметров в главе 4 и в публикациях автора несколько удивляет отсутствие ссылок на более ранние работы, в которых даны теоретические расчеты и оценены факторы, определяющие аналитические возможности этого типа анализа. Я имею в виду, прежде всего, книгу С.Д. Варфоломеев, С.В. Зайцев «Кинетические методы в биохимических исследованиях», изд. МГУ 1982 год и работу Ekins R.P., Newman G.B., O'Riordan J.L.H. (1968) Radioisotopes in Medicine, in Vitro Studies, p.59-101, US Atomic Energy Commission, Oak Ridge.

Вопрос математического моделирования иммунохроматографических систем (Глава 2) на мой взгляд в диссертации и в статьях автора (С39, С116, С117) рассмотрен без детальной проработки. Требуется пояснение вклада автора именно в макрокинетическое рассмотрение вопросов иммунохроматографии. Описание процессов только системой дифференциальных уравнений без учета пространственных особенностей мне кажется не достаточным и, в известной степени, тривиальным.

Вместе с тем, высказанные замечания не искажают общего положительного впечатления от работы А.В. Жердева. Результаты, полученные автором, содержат очевидные признаки научной новизны и имеют неоспоримую практическую значимость.

Таким образом, диссертационная работа А.В. Жердева «Имунохроматографические системы: молекулярные закономерности функционирования и практические приложения» является научно-квалификационной работой, в которой разработан общий инструментарий для описания иммунохроматографических систем и оценки возможностей их аналитического применения. Совокупность полученных результатов можно квалифицировать как научное достижение. Это научное достижение имеет

важное социально-экономическое значение в деле развития иммуноаналитических систем.

На основании изложенного считаю, что диссертационная работа «Иммунохроматографические системы: молекулярные закономерности функционирования и практические приложения» полностью соответствует паспорту научной специальности 1.5.4. Биохимия (химические науки) и требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к работам в виде научного доклада на соискание ученой степени доктора наук, а её автор, Жердев Анатолий Виталиевич, заслуживает присуждения искомой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

**Официальный оппонент,
доктор химических наук, профессор,
директор ФГБУН «Институт биохимической
физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук»
119334, Москва, ул. Косыгина д.4,
+7(499) 137-64-20, director@sky.chph.ras.ru**



И.Н. Курочкин

29.09.2022

Подпись И.Н. Курочкина удостоверяю.

Ученый секретарь ИБХФ РАН
кандидат биологических наук



Скалацкая С.И.