

ОТЗЫВ

на диссертацию Жердева А.В. «Иммунохроматографические системы: молекулярные закономерности функционирования и практические приложения», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук в виде научного доклада по специальности 1.5.4. Биохимия.

Диссертационное исследование Жердева А.В. посвящено созданию иммунохроматографических систем анализа для практического здравоохранения, сельского хозяйства, контроля пищевой безопасности и экологического контроля, а также на поиск закономерностей их эффективного функционирования. Этот труд вобрал в себя научные достижения диссертанта и коллектива его соавторов и обогатил ими более чем двадцатилетнюю историю наиболее интенсивного развития иммунохроматографии.

Сфера практического использования подобных иммунохроматографических тестов чрезвычайно широка, а такие характеристики как экспрессность, простота выполнения и пригодность для полевых условий особо привлекательны и актуальны в настоящих реалиях. Несмотря на кажущуюся простоту конструкции иммунохроматографического теста, процессы многостадийного иммунного комплексообразования в проточных мембранных системах между молекулами гетерогенными по своим характеристикам, реагирующими и в растворе и на поверхности раздела фаз с разной степенью приближения к равновесным состояниям, изучены лишь частично и мало предсказуемы. Эти сложные взаимодействия были структурированы, пошагово изучены и получили объяснение в работе диссертанта.

Предложенная классификация гетерогенных иммуноаналитических систем охватывает все основные форматы анализа. Заложенные в классификации принципы подразделения на разновидности анализа обеспечили алгоритм для применения к таким форматам анализа единых подходов улучшения их характеристик, а на основании математического моделирования позволили прогнозировать предел определения тестов.

Подбор условий и параметров приготовления конъюгатов антител с наночастицами золота, математические расчеты и экспериментальные подтверждения позволили диссертанту выработать методику оценки конъюгированных иммунореагентов для их экономичного, но эффективного функционирования. В работе рассмотрены варианты тестов с применением альтернативных наночастиц-маркеров и магнитных частиц, представлены их преимущества по сравнению с обычными НЧЗ для снижения предела определения ряда аналитов.

Четвертая глава диссертации представляет интерес, демонстрируя ряд подходов управления специфичностью иммунохимического определения структурно близких

соединений. Например, направленная метаболизация оказалась полезной для детекции таких лабильных аналитов, как бета-лактамы. Изменения же концентрационных соотношений антител и конкурирующих антигенов могут в некоторой степени видоизменять профиль перекрестной реактивности, если не придерживаться оптимальной интенсивности сигнала системы. Однако, при соблюдении этого критерия, влияющего на точность определения, эти изменения, как правило, несущественны. К сожалению, результаты подобного экспериментального сравнения не представлены.

Мультиплексный анализ обладает очевидным преимуществом перед анализом отдельных аналитов. В проведенных диссертантом исследованиях выявлены ограничения иммунохроматографии нескольких аналитов, найдены пути их преодоления - разное дистанцирование тест-зон, дифференцированный сигнал, двумерная и мультитрековая иммунохроматографии. На основе этих подходов реализован ряд мультиплексных тест-систем на иммунохроматографических тест-полосках.

Прединкубация, замедление и изменение ширины капиллярного тока, агрегация наночастиц с усиленным сигналом, ферментное мечение и использование нанозимов представлены в работе как способы снижения пределов обнаружения аналитов, систематизированные в соответствии с их воздействием на разные этапы проведения иммунохроматографии.

Глава 7 суммирует все разработанные диссертантом иммунохроматографические системы и систематизирует их по группам задействованных аналитов. Представленный в разделе перечень систем более чем к 50 аналитам, различным низко- и макромолекулярным антигенам, антителам и патогенам растений, животных и человека снабжен основными характеристиками - сферой применения, исследованными объектами и пределом определения (визуальным или инструментальным не указано). Дополнительный столбец в Таблице 9 со ссылками на соответствующие публикации автора был бы весьма уместен и удобен для поиска конкретной работы.

Содержание диссертации изложено по разделам понятно, прекрасно иллюстрировано, а выводы аргументированы. Тем не менее, имеется ряд замечаний, приведенных далее.

- В настоящее время при контроле безопасности сельскохозяйственной и пищевой продукции низкомолекулярными токсикантами, обнаружении экотоксикантов и мониторинга фармпрепаратов общепринято сочетание скринингового и подтверждающего методов, основанных на разных методических принципах, о чем упоминает сам автор (стр 53). В этой связи, представленные в диссертационной работе результаты стрип-тестов и

данные о позитивных образцах следовало бы сопровождать хроматографическим подтверждением.

- На Рисунке 9 следовало бы указать значение стрелок 1 и 2. Варианты 3 и 4 в классификации форматов иммуноанализа неотличимы. Также загадкой остался принцип анализа «двух-сайтового формата (сэндвич-анализа) с мечением антигенов».

- Таблица 6. Преимущества, достигнутые при использовании альтернативных наночастиц-маркеров, должны указываться для конкретных аналитов, а не для групп соединений (микотоксины, антибиотики).

- Рисунки 20 Б, 39А, 43. Отсутствуют легенды к представленным кривым и результатам.

- Рисунок 23Б. Улучшение предела обнаружения аналита в пробах при ухудшении его детекции в более концентрированных растворах метанола не находит объяснение в тексте и в представленной ссылке [С38].

- Пример проточного мембранного анализа ионов тяжелых металлов с использованием аптамеров несомненно украшает и без того весьма масштабный труд диссертанта, но выходит за рамки иммунохроматографии, обозначенной в названии работы.

Однако, эти замечания, безусловно, носят технический характер и не снижают ценности и положительного впечатления о данной работе.

Диссертация Жердева Анатолия Виталиевича «Иммунохроматографические системы: молекулярные закономерности функционирования и практические приложения» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая по своей актуальности, научной значимости, масштабу, ценности и достоверности полученных результатов соответствует требованиям ВАК, а ее автор и исполнитель заслуживает присуждения ему ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. - Биохимия.

Заведующий лабораторией биоконъюгатов,
главный научный сотрудник, доктор биологических наук,
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»,
Буркин Максим Алексеевич
(105064, Российская Федерация, Москва, Малый Казенный переулок, 5а
ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова
тел.: +7 (495) 917 2753; e-mail: burma68@yandex.ru)

Дата 22.09.2022

Подпись Буркина М.А. удостоверяю:

Начальник отдела кадров



Е.В. Лукачёва