

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Храмова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. «Иммунология»

Иммуноферментный анализ на сегодняшний день стал незаменимым инструментом как научных исследований, так и массовой диагностики. Сочетание высокой аффинности и специфичности иммунного распознавания с высокочувствительным выявлением образующихся комплексов антиген-антитело благодаря включению в их состав ферментной метки обеспечивает возможность достоверного выявления и оценки содержания самых разнообразных соединений. Возможности массового применения иммуноферментного анализа поддерживаются развитием технологий – производства микропланшетов, полуавтоматических и автоматических систем для реализации многостадийных аналитических процессов. В подавляющем большинстве современных иммуноферментных систем в качестве ферментной метки используется пероксидаза хрена – высокоактивный катализатор, эффективно трансформирующий ряд хромогенных субстратов.

Тем не менее, проведение иммуноферментного анализа нельзя считать навсегда выбранной и устоявшейся методикой. Так, существенным усовершенствованием стала реализация хемилюминесцентной регистрации каталитической метки, позволяющей существенно снизить пределы обнаружения по сравнению с традиционной фотометрической регистрацией. Предлагаются и вызывают интерес работы с заменой носителей для формирования детектируемых иммунных комплексов, преодолением диффузионных ограничений и сокращения продолжительности тестирования, управлением антиген-связывающими свойствами антител посредством направленного молекулярно-генетического дизайна их антиген-связывающих сайтов.

В этом ряду важным направлением разработок является изучение альтернативных каталитических меток, позволяющих повысить стабильность реагентов, их устойчивость к действию компонентов тестируемых проб, расширить диапазон условий генерации регистрируемых оптических сигналов. В последние годы идет активное накопление знаний о применении наночастиц (как неорганических, так и композитов из биополимеров и неорганических соединений) в качестве альтернатив природным ферментам, катализирующих те же реакции. Такие каталитические частицы – нанозимы – в ряде случаев не уступают по эффективности трансформации субстратов природным ферментам. Для многих наночастиц показана пероксидазная активность, однако данные о возможностях их применения в разных типах аналитических систем и о систематическом сравнении с природными ферментами как аналитических маркеров весьма ограничены.

Работа П.В. Храмова демонстрирует несомненный значительный прогресс в решении этой востребованной и актуальной задачи. Соискателем разработан комплекс подходов к получению каталитически активных маркеров для иммуноанализа на основе наночастиц с различным белковым покрытием. Детально охарактеризованы возможности наиболее перспективных маркеров – комплексов гемин-белок и наночастиц берлинской лазури. Полученные наночастицы обладают высокой каталитической активностью, сравнимой с таковой пероксидазы хрена. Продемонстрирована возможность существенного увеличения аналитического сигнала в колориметрическом иммуноанализе с использованием наноматериалов за счет варьирования состава субстратного буфера. Охарактеризовано применение магнитных наночастиц в ЯМР-иммуноанализе.

Результаты изучения новых перспективных маркеров успешно применены в системах иммуноанализа противостолбнячных антител и простатспецифического антигена. Универсальность предложенных подходов позволяет прогнозировать

успешность их интеграции с задачами иммуноопределения других диагностически значимых веществ.

Автореферат адекватно отражает основные результаты исследования и демонстрирует успешное решение всех поставленных задач. Работа, безусловно, соответствует специальности 3.2.7. «Иммунология».

Соискателем опубликовано 15 статей по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в базах данных WoS, Scopus, RSCI. Получено 4 патента. Результаты исследований были представлены в форме докладов на ряде профильных конференций.

Таким образом, диссертационная работа Храмцова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» является научно-квалификационной работой, в которой решения научная проблема, имеющая важное значение для иммунологии – разработан комплекс научно-методических подходов по получению нанодисперсных препаратов с каталитической активностью и показана эффективность их применения в иммуноаналитических системах.

Диссертационная работа характеризуется научной новизной и практической значимостью, полностью соответствует требованиям Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., в действующей редакции с учетом внесенных изменений, а её автор, Храмцов Павел Викторович, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. «Иммунология».

Ведущий научный сотрудник
лаборатории иммунобиохимии
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН),
доктор химических наук

ЖЕРДЕВ Анатолий Виталиевич
«14» 08 2024 г.

*Подпись сотрудника ФИЦ Биотехнологии РАН
Жердева Анатолия Виталиевича заверяю*

Зав. канцелярией ФИЦ Биотехнологии РАН

МАЖОРОВА Любовь Евгеньевна
«14» 08 2024 г.

119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.
ФИЦ Биотехнологии РАН
тел.: (495)954-28-04., e-mail: zherdev@inbi.ras.ru



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Храмцова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология

Необходимость новых перспективных иммуноанализов важна в области диагностики, особенно в контексте появления инфекционных заболеваний, развития персонализированной медицины и востребованности раннего выявления заболеваний. Традиционные иммуноанализы сыграли важную роль в диагностике различных состояний, но существует растущий спрос на анализы, предлагающие улучшенную чувствительность, специфичность и возможности мультиплексирования. Более того, появление новых инфекционных заболеваний и угроза глобальных пандемий подчеркивают необходимость быстрых и точных диагностических инструментов. Новые аналитические системы, оснащенные передовыми технологиями, могут значительно сократить время, необходимое для диагностики, обеспечивая оперативное вмешательство и ограничение инфекционных вспышек. Кроме того, интеграция новых иммуноанализов с передовой нанотехнологией и микрофлюидикой имеет потенциал революционизировать область диагностики.

В диссертации Храмцова П.В. представлены новые подходы к получению диагностикумов, применимых в иммуноаналитических инструментах, базирующиеся на использовании различных наноматериалов с белковым покрытием. Наиболее интересен в этом отношении, на мой взгляд, ЯМР-иммуноанализ с использованием магнитных железоуглеродных наночастиц. Несмотря на достаточно экзотический способ регистрации сигнала, уже сейчас существуют коммерческие тест-системы такого типа. В диссертации был показан способ получения магнитных меток для ЯМР-иммуноанализа, которые были протестированы на модельной мишени – противостолбнячных антителах. Хорошая корреляция результатов с ИФА показывает правильность работы диагностикума и метода в целом. Большое внимание в работе уделено заместителям пероксидазы хрена, наночастицами берлинской лазури. Этот материал проявляет такую же активность, как и фермент, но является более дешевым в получении. Берлинскую лазурь автор применил в тест-системах для определения все тех же столбнячных антител, а также простатспецифического антигена. В целом, пределы обнаружения и линейные отрезки калибровочных кривых позволяют говорить о практической применимости таких тест-систем, однако возможность замены пероксидазных тестов все же вызывает сомнения. Скорее всего, это задача будущих исследований.

Наиболее всего в диссертационном исследовании привлекает обилие современных методов исследования, включая различные виды электронной микроскопии и спектроскопических анализов. Очевидно, что внимание, уделяемое в Российской Федерации обновлению и модернизации приборного парка, дает свои плоды. Работа была выполнена при сотрудничестве с целым рядом научных лабораторий, в том числе физического и химического профиля. Обширное применение различных способов характеристики наноматериалов позволило получить исчерпывающие сведения о свойствах разработанных диагностических реагентов. Столь подробное исследование структуры и свойств диагностикумов позволило выявить целый ряд закономерностей,

которые дают возможность осуществлять выбор белкового покрытия в зависимости от задач исследования. В частности, желатиновое покрытие обеспечивает наилучшую стабильность диагностикумов, а также способствует проникновению субстрата к поверхности наночастиц. Таким образом, оно неплохо подходит для тех самых заместителей пероксидазы, о которых сказано выше.

Из материалов автореферата следует очевидная практическая направленность работы, что весьма ценно в эпоху импортозамещения и необходимости создания собственной технической и технологической базы в нашей стране.

Принципиальных вопросов и замечаний автореферат не вызвал.

Таким образом, диссертационная работа Храмова Павла Викторовича на тему: «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» является научно-квалификационной работой в которой решена научная проблема получения иммунодиагностикумов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для биологии, а именно для специальности 3.2.7. Иммунология и соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры организации и управления
в сфере обращения лекарственных средств
Института профессионального образования
Федерального государственного автономного
образовательного учреждения
высшего образования Первый Московский
государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)
Министерства здравоохранения
Российской Федерации

И.Г. Козлов

119991 г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)
Тел.: +7(499) 248-05-53
E-mail: rektorat@sechenov.ru



ТИСЫ ЗАВЕРЯЮ
27.09. 2024 г.

В. Комарова О.В.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Храмова Павла Викторовича
на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве
диагностических реагентов для иммуноанализа», представленной на соискание
ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7 -
Иммунология.

Диссертационная работа Павла Викторовича Храмова посвящена актуальному направлению исследований, связанному с разработкой новых и совершенствованием традиционных методов иммуноанализа. При этом речь идет не только об аналитических системах диагностического характера, но и об иммуноаналитике в целом (прикладная биохимия, пищевая экспертиза, экологическое тестирование).

Последнее обстоятельство подтверждается материалами, изложенными в автореферате, в той его части, которая посвящена фактически описанию разработки технологической платформы, на основе которой возможно конструирование широкого спектра аналитических тест-систем, основанных на принципе иммуноанализа.

Весьма важным обстоятельством, которое необходимо отметить, является то, что в представленной работе исследована возможность применения альтернативных пероксидазе хрена меток, входящих в структуру тест-систем. По существу, предлагается и экспериментально подтверждается возможность замены традиционно используемого в клинической диагностической практике метода иммуноферментного анализа на метод, основанный на применении детектирующих реагентов, которыми являются синтетические наночастицы. При этом привычное процедурное оформление остается прежним, а новые метки, являясь имитаторами пероксидазы хрена, в некоторой степени являются даже более привлекательными, чем пероксидаза.

Включенные в структуру диагностикумов наночастицы берлинской лазури, получаемые диссертантом на основе авторских технологических приемов, демонстрируют ряд преимуществ по сравнению с ферментными метками. В первую очередь это касается простоты и экономичности синтеза, надежной воспроизводимости, каталитической эффективности и других характеристик.

Кроме этого, в автореферате описана разработка оригинальных диагностикумов на основе магнитных наночастиц и их практическое использование с применением метода ядерно-магнитного резонанса. На примерах конкретных тест-систем (определение антистолбнячных антител, простатического специфического антигена) автором показано, что все варианты диагностикумов эффективны в части обнаружения достаточно низких концентраций биомаркеров и могут стать основой для создания целого направления в разработке практически значимых систем анализа.

Целью диссертационного исследования Храмова П.В. была разработка концептуальных подходов (получение, управление свойствами, контроль качества) к созданию диагностических реагентов для иммуноанализов, на основе белковых наночастиц и наноматериалов с белковым покрытием. Сформулированные автором 4 задачи адекватны цели, выводы соответствуют поставленным задачам и логично вытекают из полученных результатов. Методическое оснащение и

грамотный дизайн исследований не позволяют усомниться в корректности полученных результатов.

По материалам диссертации опубликовано 19 научных статей в изданиях, включенных в Перечень ВАК для публикации результатов диссертационных исследований по специальности 3.2.7. Иммунология и/или индексируемых в МБД Scopus, WoS и RSCI, а также получено 4 патента РФ

Представленные в автореферате материалы позволяют убедиться в научной новизне, глубине и обоснованности полученных результатов. Вопросов и принципиальных замечаний нет.

Таким образом, судя по автореферату, диссертационная работа Храмова Павла Викторовича на тему: «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» является научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема получения иммунодиагностикомов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для биологии, а именно для специальности 3.2.7. Иммунология.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости работа соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, установленным разделом II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с послед. изменениями), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Данные об авторе отзыва

Дмитрий Юрьевич Соснин

Профессор кафедры факультетской терапии № 2,
профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики
ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера Минздрава России
Доктор медицинских наук, доцент

19 сентября 2024 года

Подпись доцента, д.м.н. Соснина Д.Ю. заверяю:

Болотова Ирина Александровна
Начальник отдела кадров
«19» сентября 2024 года

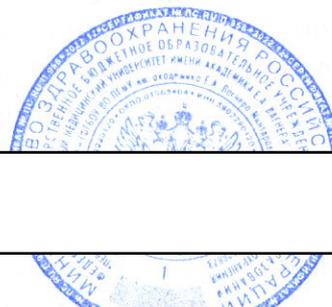


Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26

Телефон: +7 (342) 217-20-20

Электронная почта: rector@psma.ru



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

Храмцова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Как следует из автореферата диссертации Павла Викторовича Храмцова, проведенные исследования носят сложный комплексный характер. Основной идеей представленной работы является создание иммуноаналитических систем диагностики на основе новых детектирующих реагентов. При этом предметом разработки являются не только сами диагностикумы, но и технологии получения их реагентной основы. В работе рассмотрены магнитные наночастицы, для регистрации сигнала от которых применяется ЯМР-релаксометрия, и наночастицы берлинской лазури, которые можно рассматривать как альтернативу традиционно применяемой в иммуноферментном анализе пероксидазе хрена.

В случае использования магнитных наночастиц можно обоснованно ожидать получения высоких значений чувствительности за счет метода регистрации, основанного на явлении ядерно-магнитного резонанса. Частицы берлинской лазури проявляют каталитические свойства, подобные пероксидазе хрена, но при этом лишены ряда недостатков фермента, что делает их более привлекательными. Таких соединений, отнесенных к группе нанозимов, в последнее время обнаружено немало, но широкого применения в реальной практике пока не наблюдается. Причина, скорее всего, кроется в относительной нестабильности меток и несовершенстве технологий в части воспроизводимости.

Автор уделил особое внимание разработке технологий, которые привели к реализации задач по применению указанных наночастиц в конструкции иммунодиагностических систем. Как следует из автореферата, ему удалось решить основные проблемы, не позволявшие до сих пор массово конструировать тест-системы с более привлекательными характеристиками, нежели традиционно используемые. Разработанные технологические приемы позволяют получать стабильные наноразмерные диагностикумы, не требующие специальных условий при хранении. Следует отметить, что данные наноразмерные диагностикумы обладают высокой каталитической активностью, в существенной степени просты и экономичны при синтезе. Оригинальным подходом,

объединяющим в аналитической процедуре принципы твердофазного иммуноанализа и анализа в объеме, явилась аранжировка тест-систем для определения ПСА (простатспецифического антигена) методом ЯМР-релаксометрии с применением функционализированных магнитных наночастиц.

Публикации в авторитетных, по большей части зарубежных, изданиях Храмцова П.В., полученные авторские свидетельства, многочисленные выступления на мероприятиях различного статуса свидетельствуют о высоком научно-техническом уровне исследовательской работы, представленные результаты которой можно расценивать как платформу для конструирования широкого ряда диагностических инструментов.

Весьма впечатляет методическое сопровождение всей работы, которое кратко, но наглядно описано в автореферате. Для достижения поставленной цели, связанной с разработкой технологий получения наноразмерных диагностикумов, автором были сформулированы четыре задачи, успешное выполнение которых следует из описания собственных исследований и логично связанных выводов.

Практическую сторону реализации диссертационного исследования вполне убедительно демонстрируют характеристики сконструированных иммуноаналитических тест-систем для определения антистолбнячных антител и простатспецифического антигена в достаточно низких концентрациях.

Из материалов, представленных в автореферате, следует, что выполненное исследование актуально и обладает существенным практическим потенциалом с точки зрения применения результатов в реальной диагностической практике.

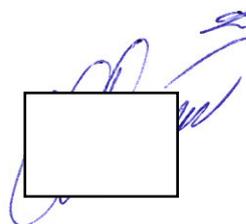
Принципиальных замечаний к автореферату и вопросов не возникло.

Таким образом, судя по автореферату, диссертационная работа Храмцова Павла Викторовича на тему: «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» является научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема получения иммунодиагностикумов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для биологии, а именно для специальности 3.2.7. Иммунология.

По своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости работа Храмцова Павла Викторовича соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней,

установленным разделом II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с последующими изменениями), а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Хайдуков Сергей Валерьевич
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник Лаборатории углеводов
Федерального Государственного Бюджетного
Учреждения Науки, Государственного
Научного Центра Российской Федерации
Института Биоорганической Химии
им. Академиков М.М Шемякина и
Ю.А. Овчинникова Российской Академии Наук
Почтовый адрес: 117997, г. Москва, ГСП-7,
ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10
Телефон: +7(985) 923-41-62
Электронная почта: khsergey54@mail.ru

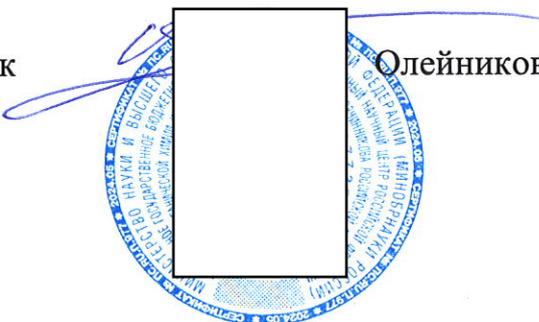


Хайдуков С.В.

Подпись д.б.н. Хайдукова С.В. заверяю:

Ученый секретарь ИБХ РАН,
доктор физико-математических наук

27 сентября 2024 года.



Олейников В.А.

Отзыв на автореферат диссертации

Храмцова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7.

Иммунология

Представленный автореферат диссертационной работы Павла Викторовича Храмцова позволяет в достаточной мере оценить проведенное исследование. Очевидно, что в работе речь идет о разработке новых инструментов не только для практики клинической лабораторной диагностики, но и для реализации методов эффективного аналитического тестирования, которые весьма уместны для научно-исследовательских целей.

Диссертантом проведено корректное сравнение между традиционными ферментными диагностикумами на основе пероксидазы хрена и реагентами на основе наночастиц. Разработаны и апробированы различные технологические подходы к созданию реагентов, репортерной частью которых являются наноразмерные частицы разной природы. Автор на конкретных примерах сконструированных иммунодиагностических тест-систем доказательно демонстрирует возможность применения получаемых при помощи разработанных технологий диагностикумов. При этом очевидным является понимание того, что одной из основных идей исследования становится разработка инструментов детекции, альтернативных традиционному используемому в иммуноферментном анализе реагентам на основе пероксидазы хрена. Очень важно отметить, что автор в работе всесторонне проанализировал значимые недостатки последних, тем самым подчеркнув актуальность и научно-технологическую востребованность своего исследования.

Не меньший интерес представляет та часть исследований, которая посвящена изучению возможности применения в иммуноанализах магнитных наночастиц и, как следствие, использованию принципиально новых методов регистрации диагностического сигнала. В данном случае можно рассчитывать на снижение предела детекции анализа, то есть выявление биомаркеров, присутствующих в образцах в очень низких концентрациях. Автор подробно исследовал и описал оригинальную аранжировку такой аналитической системы, объединяющей в себе принципы твердофазного анализа и анализа в жидкой фазе. Описанный метод регистрации сигнала, генерируемого магнитными наночастицами, основан на принципе ядерно-магнитного резонанса - ЯМР-релаксаметрия.

Знакомство с авторефератом позволяет сделать вывод о том, что автор исследования уделил особое и немалое внимание технологическим аспектам разработки диагностических препаратов на основе наночастиц. Это представляется особенно ценным, так как решение вопросов технологии синтеза, плюс всесторонняя оценка эффективности этих технологий обеспечивают надежность разработанных реагентов, сконструированных тест-систем и, в конечном итоге, качество диагностического тестирования. Важно отметить оригинальные решения, связанные с разработкой способов белкового покрытия наночастиц, что во многом способствовало получению устойчивых стабильных суспензий. При этом понятно, что предложенные технологические решения могут служить основой для создания не только описанных тест-систем, но и существенно расширить их спектр.

Глубина проработки решенных задач подтверждается обоснованностью выводов и, что весьма привлекательно, качеством опубликованных работ и полученными автором патентами. Внушительно выглядит приведенный перечень научных мероприятий

различного уровня, где были представлены материалы исследований. Стиль изложения и графическое сопровождение позволяют легко понять все аспекты диссертационной работы.

Привлекательной стороной работы является концентрация особого внимания на технологических и экономических аспектах разработанных методов синтеза частиц, а также на эксплуатационных характеристиках получаемых материалов. Содержание автореферата позволяет убедиться в таких преимуществах, как доступность исходных материалов, простота синтеза, воспроизводимость характеристик получаемых реагентов, каталитическая эффективность и др.

В целом работа производит весьма положительное впечатление. Вопросов и замечаний к автореферату не возникло.

Таким образом, судя по автореферату, диссертационная работа Храмцова Павла Викторовича на тему: «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» является научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема получения иммунодиагностикомов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для биологии, а именно для специальности 3.2.7. Иммунология.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости работа соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, установленным разделом II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с послед. изменениями), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Данные об авторе отзыва:

Лариса Сергеевна Литвинова
Директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий,
Профессор кафедры фундаментальной медицины
ОНК «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)»
Доктор медицинских наук, доцент

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»
Адрес организации: 236041, Россия, Калининград, ул. А. Невского, д.14
Тел: 7 (4012) 59-55-95/6631.
E-mail: post@kantiana.ru, LLitvinova@kantiana.ru
Веб-сайт: <https://kantiana.ru/>



Отзыв
на автореферат диссертации Храмцова Павла Викторовича
«Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве
диагностических реагентов для иммуноанализа», представленной
к защите на соискание ученой степени доктора биологических
наук по специальности 3.2.7 - Иммунология.

Применение наноматериалов в иммуноанализе представляет собой значительное достижение в области диагностики. Одно из ключевых преимуществ применения наночастиц заключается в возможности существенного снижения предела детекции аналитов в тест-системах. Уникальные свойства наночастиц, такие как высокое отношение площади поверхности к объему и настраиваемые оптические, электронные и магнитные свойства, позволяют выявлять аналиты с высокой чувствительностью. Это позволяет обнаруживать биомаркеры и другие мишени при более низких концентрациях, что повышает эффективность диагностики заболеваний на ранних стадиях.

Целью диссертационного исследования П.В. Храмцова явилась разработка и обоснование концептуальных подходов к получению диагностических реагентов для иммуноанализа на основе наночастиц с различным белковым покрытием. В соответствии с целью автором были сформулированы 4 задачи, которые были успешно решены в ходе проведения работы.

Следует отметить значительное разнообразие использованных в работе современных методов исследования структуры наноматериалов - метод динамического светорассеяния, электронная и атомно-силовая микроскопия, рентгенофазовый анализ, элементный анализ. В процессе чтения автореферата благоприятное впечатление оставляет свободный и непринужденный стиль изложения автором полученных данных.

Храмцовым П.В. впервые были разработаны диагностикумы для ЯМР-анализа на основе магнитных наночастиц с белковым покрытием. Интересно, что в работе для получения наноразмерных меток была использована технология синтеза белковых наночастиц, которая широко применяется для создания систем адресной доставки лекарств, но практически не используется в иммунохимии. Речь идет о методе коацервации или, как именует ее автор, десольватации. В литературе есть сообщения о возможности получения суспензий желатиновых, казеиновых, альбуминовых, овальбуминовых наночастиц при добавлении спирта к раствору белка. Такие наночастицы стабильны, обладают низкой токсичностью, в том числе и *in vivo*, могут выступать как контейнеры для

лекарств. В диссертационном исследовании Храмцова П.В. этот подход использован с целью синтеза диагностикумов для иммуноанализа, что себя оправдало ввиду описанных преимуществ таких частиц. Лекарство можно заменить на молекулу-метку (или наночастицу-метку, как показал автор), что позволяет детектировать эти наночастицы разными способами, а именно путем измерения флуоресценции, цветовых и магнитных сигналов. Возникает вопрос, почему автор не использовал метод десольватации, который так хорошо себя показал, для синтеза магнитных диагностикумов. Вполне вероятно, такой подход также был бы успешен.

На основании материалов, изложенных в автореферате, можно охарактеризовать теоретическую и практическую значимость работы Храмцова П.В., которая состоит в том, что разработаны технологические подходы к синтезу реагентов для иммуноферментного иммуноанализа, представляющие собой миметики пероксидазы хрена, инкапсулированные в альбуминовую и желатиновую оболочку. Такие реагенты являются более дешевыми и доступными альтернативами этого известного фермента. При этом полученные наночастицы обладают высокой каталитической активностью, сравнимой с таковой у пероксидазы хрена.

Приоритет исследований автора защищен рядом патентов. Значительное число полученных свидетельств интеллектуальной собственности подчеркивает важность проведенных исследований и обосновывает возможность применения результатов в практике профильных учреждений.

Широкий кругозор Храмцова П.В. в сфере интересов собственных исследований и в смежных областях научного поиска подтверждается большим списком цитируемой литературы, состоящим из 406 источников.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в известных международных журналах, но, к сожалению, практически не представлены в отечественных изданиях. Данные диссертационной работы многократно были доложены на Российских и международных съездах и конференциях., что свидетельствует о высоком научном уровне исследования.

Вызвал вопрос способ стабилизации альбуминовых наночастиц. Для формирования сшивок между молекулами альбумина наночастицы нагревали, это должно было неизбежно привести к их денатурации. Хотелось бы услышать мнение автора, как это отразилось на неспецифических взаимодействиях наночастиц с иммуносорбентом в ходе иммуноанализа.

Принципиальных замечаний по работе нет. Автореферат диссертации Храмцова П.В. содержит исчерпывающее описание методов и результатов исследования. Поставленная цель достигнута, решение задач отражено в положениях, выносимых на защиту. Выводы, сделанные автором,

соответствуют цели и задачам, логически вытекают из полученных результатов.

Таким образом, судя по автореферату, диссертационная работа Храмцова Павла Викторовича на тему: «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» является научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема получения иммунодиагностикомов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для биологии, а именно для специальности 3.2.7. Иммунология.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости работа соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, установленным разделом II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с послед. изменениями), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского
отдела лабораторной диагностики научно-исследовательского
центра Федерального государственного бюджетного
учреждения «Всероссийский центр экстренной и
радиационной медицины им. А.М. Никифорова»
Министерства Российской Федерации по делам
гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям
и ликвидации последствий стихийных бедствий
доктор биологических наук

Бычкова Наталия Владимировна

«23» сентября 2024 г.

Подпись д.б.н. Бычковой Н.В. заверяю:

Заместитель директора (по научной
и учебной работе, медицине катастроф)
доктор медицинских наук,
доктор психологических наук,
профессор, заслуженный деятель науки РФ

Рыбников Виктор Юрьевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий

Адрес: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д.4/2

Тел. +79213201262, e-mail BNV19692007@yandex.ru