

СТЕНОГРАММА

заседания Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.063.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук
(протокол № 16)

г. Екатеринбург

09 октября 2024 г.

Председатель – Черешнев В.А., председатель Совета 24.1.063.01, академик РАН, д.м.н., профессор

Секретарь – Журавлёва Ю.А., ученый секретарь Совета 24.1.063.01, к.б.н.

ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИИ

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ С БЕЛКОВЫМ ПОКРЫТИЕМ В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОАНАЛИЗА

представленной Храмцовым П.В. на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология

Научный консультант:

- Раев М.Б., д.б.н., доцент (г. Пермь);

Официальные оппоненты:

- Долгих О.В., д.м.н. (г. Пермь);

- Колесникова Н.В., д.б.н., профессор (г. Краснодар);

- Карамов Э.В., д.б.н., профессор (Москва)

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт Экспериментальной Медицины» (Санкт-Петербург)

Екатеринбург - 2024

Черешнев В.А., председатель Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.063.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН (далее – дис. совета), академик, д.м.н., профессор. Напоминает о том, что заседание проводится в очном и удаленном интерактивном режиме в соответствии с п.п. 22-24 «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (с изменениями от 14.12.2023 г.)», ходатайством председателя дис. совета Черешнева В.А. и приказом директора ИИФ УрО РАН О.Э. Соловьёвой, д.ф.-м.н., проф.

Оглашает повестку заседания:

Защита диссертационной работы к.б.н. *Храмцова Павла Викторовича*, с.н.с. лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, соискателя ученой степени доктора биологических наук по специальности: 3.2.7. Иммунология. Тема диссертации: «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа».

Научный консультант:

- Раев Михаил Борисович, доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией клеточной иммунологии и нанобиотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиала ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (г. Пермь).

Официальные оппоненты:

- Долгих Олег Владимирович, доктор медицинских наук, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г. Пермь);

- Колесникова Наталья Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики факультета повышения квалификации и переподготовки специалистов ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Краснодар);

- Карамов Эдуард Владимирович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией иммунохимии Института вирусологии им.

Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва).

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт Экспериментальной Медицины» (Санкт-Петербург).

Предоставляет слово ученому секретарю Журавлёвой Ю.А. для оглашения списка присутствующих на заседании.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н.
Оглашает список присутствующих на заседании членов дис. совета.

№	ФИО	Ученая степень, ученое звание, шифр специальности в совете	Формат присутствия на собрании	
			очно	онлайн
1	Черешнев Валерий Александрович	председатель Совета 24.1.063.01, академик РАН, д.м.н., профессор, 3.2.7, медицинские науки	очно	
2	Журавлёва Юлия Александровна	ученый секретарь Совета 24.1.063.01, к.б.н., 3.2.7, биологические науки	очно	
3	Бердюгина Ольга Викторовна	д.б.н., 3.2.7, биологические науки	очно	
4	Бершицкий Сергей Юрьевич	д.б.н., 3.3.3, биологические науки	очно	
5	Гусев Евгений Юрьевич	д.м.н., профессор, 3.2.7, медицинские науки	очно	
6	Давыдова Евгения Валерьевна	д.м.н., доцент, 3.3.3, биологические науки		онлайн
7	Данилова Ирина Георгиевна	д.б.н., доцент, 3.2.7, биологические науки	очно	
8	Забокрицкий Николай Александрович	д.м.н., доцент, 3.2.7, биологические науки	очно	
9	Зурочка Александр Владимирович	д.м.н., профессор, ЗДН РФ, 3.2.7, медицинские науки	очно	
10	Зурочка Владимир Александрович	д.м.н., 3.2.7, медицинские науки	очно	
11	Ковальчук Людмила Ахметовна	д.б.н., доцент, 3.3.3, биологические науки	очно	
12	Лагерева Юлия Геннадьевна	д.б.н., 3.2.7, биологические науки	очно	
13	Никитина Лариса Валерьевна	д.б.н., 3.3.3, биологические науки	очно	
14	Сарапульцев Алексей Петрович	д.б.н., 3.3.3, биологические науки	очно	

15	Саркисян Нарине Гришаевна	д.м.н., 3.2.7, медицинские науки	очно	
16	Соловьёва Ольга Эдуардовна	д.ф.-м.н., проф., 3.3.3, биологические науки		онлайн
	<i>Итого</i>		14	2

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. Таким образом, на заседании сегодня присутствуют 16 человек. По специальности защищаемой диссертации 3.2.7. Иммунология, биологические науки - 5 чел. Остальные 11 членов совета представляют специальности 3.2.7. Иммунология, медицинские науки (5 чел.) и 3.3.3. Патологическая физиология, биологические науки (6 чел.).

Дистанционно принимают участие 2 человека – Соловьёва Ольга Эдуардовна, д.ф.-м.н., проф., и Давыдова Евгения Валерьевна, д.м.н., доцент. Остальные 14 человек – члены диссертационного совета – присутствуют очно.

Отсутствуют по уважительной причине 7 человек, члены дис. совета:

- Бейкин Яков Борисович, д.м.н., проф., засл. врач России, 3.2.7, медицинские науки,
- Проценко Юрий Леонидович, д.б.н., с.н.с., 3.3.3, биологические науки,
- Сарапульцев Петр Алексеевич, д.м.н., проф., ЗДН РФ, 3.2.7, биологические науки,
- Семёнов Александр Владимирович, д.б.н., 3.2.7, биологические науки,
- Тузанкина Ирина Александровна, зам. председателя Совета 24.1.063.01, д.м.н., профессор, ЗДН РФ, 3.2.7, медицинские науки,
- Чистякова Гузель Нуховна, д.м.н., профессор, ЗДН РФ, 3.2.7, медицинские науки,
- Юшков Борис Германович, зам. председателя Совета 24.1.063.01, д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, ЗДН РФ, 3.3.3, биологические науки.

Оглашает требования к заполнению явочного листа, озвучиванию вопросов, участию в дискуссии и тайном электронном голосовании (голосование онлайн). Информировует о том, что в случае возникновения технических неполадок, например, если прервется связь с участвующими дистанционно, председатель заседания дис. совета объявит 15-минутный перерыв. (Если неполадки не будут устранены: например, связь не наладится с кем-нибудь из членов диссертационного совета, то последний исключается из кворума и не допускается к голосованию, если он не успел к этому времени высказать свою позицию (ЗА или ПРОТИВ). В случае недостаточности кворума заседание переносится на следующий день.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Уточняет, есть ли вопросы к Юлии Александровне. Предоставляет

Юлии Александровне слово для оглашения материалов аттестационного дела соискателя.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. В составе аттестационного дела Храмцова П.В. имеются следующие документы:

- заявление Храмцова П.В. от «20» июня 2024 г. в дис. совет о приеме диссертации к публичной защите;
- личный листок по учету кадров, заверенный гл. специалистом по кадрам ИЭГМ УрО РАН;
- копия диплома кандидата наук (серия КНД, № 023826), выд. Минобрнауки РФ (приказ от 14.07.2016 г. № 919/нк-6);
- информация о размещении докторской диссертации на сайте ИИФ УрО РАН – 24 июня 2024 г.;
- информация о размещении автореферата докторской диссертации на сайте ИИФ УрО РАН – 09 июля 2024 г.;
- объявление о защите и размещении автореферата докторской диссертации на сайте ВАК – 09 июля 2024 г.;
- информационная справка о Храмцове Павле Викторовиче (сведения о научном консультанте, выпускающей организации, членах экспертной комиссии дис. совета, ведущей организации, официальных оппонентах);
- диссертация и автореферат на правах рукописи. Проверка оригинальности/уникальности по системе «Антиплагиат» показала – оригинальность автореферата и диссертации – 89,07 %;
- справка о сдаче диссертации, 2 экз. автореферата и CD-диска в библиотеку УрО РАН от 08 июля 2024 года.
- 2 акта о внедрении результатов диссертационного исследования:
 - *в научно-исследовательскую работу* лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии ИЭГМ. Акт утвержден зам. директора по научной работе ИЭГМ, д.б.н. Егоровой Дарьей Олеговной;
 - *в учебный процесс* кафедры микробиологии и иммунологии Пермского гос. нац. исслед. института УрО РАН в лекционном курсе «Стереоспецифические взаимодействия»). Акт утвержден проректором по учебной работе Габдурафиковой Анной Сергеевной, к.ф.-м.н., доцентом;
- Список научных работ по теме диссертации, включающий 19 работ, в том числе 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 – 15, 4 патента РФ.

- реестр рассылки авторефератов диссертации от 07 августа 2024 года (в 32 организаций, из них 8 обязательных адресов и 24 дополнительных по специальности «иммунология»);

- приказ директора ИИФ УрО РАН Соловьёвой О.Э. № 32 от 10.09.24 г. и ходатайство председателя диссертационного совета Черешнева В.А. о проведении заседания по защите диссертации Храмцова П.В. в очном и удаленном интерактивном режимах;

- согласие Храмцова П.В. на проведении заседания дис. совета по защите его диссертационной работы в очном и дистанционном режимах.

- заявление участников заседания (членов дис.совета Давыдовой Е.В., Соловьёвой О.Э. и официального оппонента Колесниковой Н.В.) об участии в заседании дис. совета в режиме онлайн.

Документы соответствуют требованиям п. 29 «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», утв. приказом Минобрнауки России от 10 ноября 2017 г. № 1093.

Зачитывает **характеристику.**

В 2012 году Храмцов Павел Викторович после защиты магистерской диссертации и окончания с отличием Пермского государственного национального исследовательского университета (ПГНИУ) поступил в аспирантуру Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (ИЭГМ УрО РАН). Научно-исследовательской работой занимается в лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, в которой работает в должности старшего научного сотрудника. Является доцентом кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ПГНИУ. В 2015 году защитил кандидатскую диссертацию на тему «Иммунодиагностическая система для оценки напряженности поствакцинального иммунитета как коклюшу дифтерии и столбняку» по специальности «клиническая иммунология и аллергология». Храмцов Павел Викторович в настоящее время имеет 70 статей в реферируемых журналах. Он соавтор семи патентов РФ на изобретения, является рецензентом международных журналов, включенных в базы данных Scopus и Web of Science. Храмцов Павел Викторович руководил проектами РФФИ в 2019-2022 годах и проектом РНФ в 2020-2022 году. В 2019 году Павел Викторович был награжден премией правительства

Пермского края второй степени в номинации за лучшую работу в области медицинских наук. Доклады Храмцова Павла Викторовича на всероссийских научных конференциях были отмечены почетными грамотами и дипломами. За время своей работы в институте Храмцов Павел Викторович показал себя как ответственный, доброжелательный сотрудник, пользующийся уважением коллектива. Характеристика подписана д.м.н., проф. Гейном Сергеем Владимировичем, директором ИЭГМ УрО РАН.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Уважаемые члены дис. совета, есть ли вопросы по документам? Вопросов нет. Слово предоставляется Храмцову П.В. для изложения основных положений диссертации – 20 мин.

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Докладывает основные положения диссертационной работы (*DVD прил.*).

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Спасибо. Уважаемые члены совета, у кого возникли вопросы?

Данилова И.Г., д.б.н., доцент. Уважаемый Павел Викторович, Вы считали магнитные наночастицы, содержащиеся в одном нанокластере? Влияет ли количество наночастиц на свойства кластера?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Глубокоуважаемая Ирина Георгиевна! Если посмотреть на внешний вид магнитных наночастиц, то представление их как отдельных частиц идеализированное. Вследствие очень маленьких размеров, они существуют как агломераты частиц. Разумеется, если применять очень большие энергозатратные методы их разрушения, можно добиться снижения их размеров, но размеры все равно порядка 20-30 нанометров. С точки зрения применения в данном иммуноанализе, использование отдельных наночастиц скорее было бы невыгодным, поскольку сигнал пропорционален их количеству. Поэтому гораздо выгоднее иметь достаточно крупные наночастицы, скажем, 200-300 нанометров. Вследствие этого снижаются пределы детекции анализов. То есть существуют два фактора. Первый – это принципиальная невозможность получения отдельных наночастиц. Второй – выгода использования крупных кластеров наночастиц для улучшения свойств иммуноанализа. Мы не проводили подсчет количества магнитных частиц, содержащихся в каждой отдельной частице. Перед нами не стояли такие задачи, поскольку, в первую очередь, мы оценивали свойства диагностических реагентов по самому главному их интегральному показателю – калибровочный кривой иммуноанализа. Разумеется, мы рассчитывали относительное содержание белковой оболочки: по массе она составляла порядка 25-30 процентов от массы наночастиц.

Бершицкий С. Ю., д.б.н., с.н.с. Уважаемый Павел Викторович, Вы покрывали белком отдельные наночастицы или их агрегаты? Зависит ли адгезия наночастиц на иммуносорбенте от их размеров? Можно ли уменьшить размер агрегатов при помощи ультразвука? Можно ли использовать представленные Вами магнитные наночастицы в других областях?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Сергей Юрьевич, белками мы покрывали агрегаты наночастиц. В процессе синтеза мы смешивали между собой наночастицы и белок при интенсивном перемешивании. Размеры контролировали при помощи концентрации солей. Мы регулировали размер частиц, уже покрытых белками, а размер кластеров регулировался на стадии аминирования магнитных наночастиц.

Взаимодействие поверхностей и наноматериалов – это вопрос непростой. Мы можем делать предположения, но без каких-то экспериментальных данных я бы не стал делать какие-то выводы. В целом, если инкубировать какое-то время одинаковое количество частиц большого и маленького размера с поверхностью, адсорбция маленьких частиц ввиду того, что они просто быстрее диффундируют, быстрее достигнет равновесия с твердой фазой, и их больше сорбируется. Большую роль играет наличие и интенсивность перемешивания, структура поверхности и т.д.

Нам не удалось уменьшить диаметр агрегатов магнитных наночастиц ниже предела в 70 нм даже при помощи мощного погружного ультразвукового дезинтегратора при температуре кипения растворителя. Исходные железоуглеродные наночастицы уже представляли собой агрегаты отдельных наночастиц. Такое агрегированное состояние было обусловлено процедурой синтеза наночастиц.

Применение синтезированных нами наноматериалов, не ограничено только иммунодиагностикой. Среди потенциальных областей применения молекулярная диагностика и биоимаджинг, основанный на методе магнитно-резонансной томографии. Подобные работы с магнитными частицами уже были опубликованы, в том числе и нашими коллегами, предоставившими нам магнитные наночастицы.

Давыдова Е.В., д.м.н., доцент. Уважаемый Павел Викторович, каким Вы видите путь от Вашей научной разработки до ее практического применения в лабораторной практике? И если да, то на каком Вы этапе?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемая Евгения Валерьевна, в рамках нашего Пермского федерального исследовательского центра мы можем довести разработку до 4-5 уровня готовности, если придерживаться терминологии ГОСТ Р 58048-2017, то есть прототипа, протестированного в лабораторных условиях с использованием реальных клинических образцов. Дальнейшие этапы разработки

могут быть проведены лишь силами индустриальных партнеров и требуют существенных финансовых вложений. Мы в своей работе продемонстрировали принципиальную работоспособность наших тест-систем, провели их частичную валидацию с использованием нескольких десятков клинических образцов.

Лагерева Ю.Г., д.б.н. Уважаемый Павел Викторович, есть ли вообще существенные преимущества у тех реагентов, которые Вы разработали, перед существующими?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемая Юлия Геннадьевна, поскольку в работе освещено несколько видов диагностических реагентов, я расскажу про каждый из них. Диагностикумы на основе магнитных наночастиц должны были стать основой принципиально новой тест-системы, основанной на принципе ЯМР, от которой были большие ожидания в отношении снижения предела обнаружения. Мы разработали диагностические реагенты и ЯМР-иммуноанализ. Он по своим аналитическим характеристикам, пределу детекции, форме калибровочной кривой, специфичности, чувствительности не превосходил иммуноферментный анализ. И более того, его доведение до уровня ИФА в плане удобства, простоты и степени автоматизации требовало существенных дальнейших разработок и инвестиций. В связи с этим, мы приняли решение не продолжать работу в этом направлении.

Если говорить о диагностикумах, которые являются миметиками пероксидазы хрена, здесь прежде всего, интересно не снижение предела детекции, а преодоление тех проблем пероксидазы хрена, о которых я говорил. А именно проблем недостаточной воспроизводимости свойств диагностических реагентов, зависимости от урожая хрена и т.д. Использование полностью искусственных материалов может решить эту проблему. На данный момент диагностические реагенты, которые мы получили в рамках этого направления, сравнимы по своим свойствам с ферментными диагностикумами. В настоящее время работаем над их дальнейшим совершенствованием, а именно масштабированием синтеза диагностических реагентов, улучшением воспроизводимости их свойств, снижением себестоимости.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Есть ли еще вопросы у членов дис. совета, в том числе, работающих в дистанционном режиме? Если нет, объявляется технический перерыв.

Технический перерыв

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Уважаемые коллеги, продолжаем защиту диссертации. Слово

предоставляется научному консультанту диссертационной работы – д.б.н., доценту Раеву Михаилу Борисовичу.

Раев М.Б., д.б.н., доцент, научный консультант. Оглашает положительный отзыв (*текст отзыва прил.*).

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Спасибо, Михаил Борисович. Слово предоставляется учёному секретарю дис. совета, к.б.н. Журавлевой Ю.А. для оглашения документов, поступивших в диссертационный совет.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. В деле имеется заключение *выпускающей организации* – ФГБУН Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, по диссертации Храмцова П.В., где указано, что в период подготовки диссертационной работы соискатель Храмцов П.В. работал в должности с.н.с. лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН - филиале ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН. По итогам обсуждения отзыва принято *заключение*, в котором отмечается личное участие автора в получении научных результатов, степень достоверности результатов проведенных исследований, актуальность темы, новизна, теоретическая и практическая значимость работы, заключающаяся в получении новых инструментов для исследования функции иммунной системы, прежде всего гуморального иммунного ответа. Публикации используются в научной деятельности ученых, занимающихся проблемами клинической иммунологии и вакцинопрофилактики, в практике работы врачей-иммунологов, а также в учебном процессе. Общее число цитирований его публикаций в РИНЦ - 264, индекс Хирша - 8, индекс Хирша в Международной базе данных Scopus - 9, цитируемость - 271. Получено 4 патента на изобретение. Научная специальность, которой соответствует диссертация, это специальность 3.2.7. Иммунология. Отмечена полнота изложений материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем, выделены наиболее значимые работы по теме диссертации. Даны рекомендации к защите диссертации с учетом научной зрелости диссертанта. Отмечено, что Храмцов Павел Викторович - сформировавшийся научный работник. Диссертационная работа Павла Викторовича является самостоятельно выполненным научно-квалификационным исследованием, которое вносит существенный вклад в специальность 3.2.7. Иммунология, так как в исследовании решена значимая для биологической отрасли науки проблема, а именно проблема получения стабильных иммунодиагностикомов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для биологии. Диссертационная работа Храмцова П.В. по актуальности проблемы, новизне результатов, научно-

практическому значению, соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении учёных степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, ... ред. 18.03.2023, 25.01.2024), а ее автор достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология. Диссертация Храмцова Павла Викторовича «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология (текст заключения прил.).

Заключение принято на заседании проблемной комиссии ИЭГМ УрО РАН. Присутствовало на заседании 12 чел., все проголосовали «за». Протокол № 2 от 31 мая 2024 г. подписан Председателем проблемной комиссии, директором ИЭГМ УрО РАН, д.м.н., профессором С.В. Гейном и 20 июня 2024 года утвержден директором ФГБУН Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, чл.-корр. РАН, д.ф.-м.н. О.А. Плеховым.

В деле имеется *отзыв ведущей организации* – ФГБНУ «Институт Экспериментальной Медицины» (г. Санкт-Петербург). В отзыве отражены актуальность темы выполненной диссертации, ее связь с планом соответствующих отраслей науки, дана характеристика работы, оценена достоверность и научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, даны рекомендации по использованию данных и выводов диссертации. В отзыве принципиальных замечаний по работе нет, но в порядке дискуссии заданы следующие *вопросы*.

1-й вопрос. Насколько широко метод, основанный на использовании ЯМР-релаксометрии, может быть внедрён в практическое здравоохранение?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Если говорить о методе ядерно-магнитного резонанса, то существуют коммерциализированные методы диагностики на основе этого подхода, направленные на обнаружение бактериальных инфекций. Это гомогенные анализы по своему формату. Если говорить о твердофазном варианте, который мы разрабатывали, то, как я также уже упоминал, мы не видим на данный момент перспектив его применения в реальной практике. По крайней мере, доведение его до практического применения потребует существенных вложений, которые в данный момент недоступны.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. *Вопрос второй.* Какие существенные преимущества имеет предлагаемый Вами диагностикум определения простатспецифического антигена перед традиционными методами иммуноферментного анализа?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Если говорить о диагностикумах на основе наночастиц берлинской лазури с желатиновым покрытием, на данный момент они по своим свойствам аналогичны диагностикумам на основе пероксидазы хрена. Если говорить о перспективах, то я их уже обозначал. Это улучшение воспроизводимости свойств диагностических реагентов от одной партии к другой и снижение себестоимости и трудностей, связанных с их использованием и получением.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. Данные вопросы не носят принципиального характера и не оказывают влияния на общую положительную оценку работы.

Зачитывает заключение:

Диссертационная работа Храмова Павла Викторовича на тему: «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является самостоятельно выполненной, завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной проблемы, имеющей важное значение для специальности 3.2.7. Иммунология, заключающейся в обосновании и разработке способов получения стабильных иммунодиагностикомов на основе наноматериалов.

По актуальности, содержанию, новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа Храмова П.В. полностью отвечает критериям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, ... ред. 18.03.2023, 25.01.2024), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ему искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Отзыв был обсужден и одобрен на заседании отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (*протокол заседания № 206 от 29 августа 2024 г.*), подписан д.м.н., профессором Серебряной Н.Б., заведующей лабораторией общей иммунологии отдела иммунологии, и утвержден д.м.н., профессором Шевченко С.Б., и.о. директора ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (*текст отзыва прил.*).

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. На автореферат Храмова П.В. поступило 6 положительных отзывов (*прил.*)

Отзыв на автореферат поступил от д.б.н. *Бычковой Наталии Владимировны*, ведущего научного сотрудника научно-исследовательского отдела лабораторной диагностики научно-исследовательского центра ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» Министерства

Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий (Санкт-Петербург). Она высоко оценивает теоретическую и практическую значимость работы, которая состоит в том, что разработаны технологические подходы к синтезу реагентов для иммуноферментного анализа. Отзыв содержит один *вопрос*: Для формирования сшивок между молекулами альбумина наночастицы нагревали, это должно было неизбежно привести к их денатурации. Интересно, как это отразится на неспецифических взаимодействиях наночастиц с иммуносорбентом в ходе иммуноанализа?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Нагревание белковых молекул до 70 С действительно приводит к денатурации, что и является основой синтеза наночастиц. При денатурации происходит разрушение существующих дисульфидных связей и образование новых дисульфидных связей, но уже межмолекулярных. Благодаря этому белковые молекулы и образуют цельную частицу. Это не влияло существенно на взаимодействие их с иммуносорбентом, хотя, несомненно, состояние альбуминовых молекул отличается от нативного. Но, тем не менее, мы не наблюдали каких-либо проблем, связанных с неспецифическими взаимодействиями диагностикумов на их основе.

Журавлёва Ю.А., к.б.н., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01. В других отзывах вопросов и замечаний нет.

Второй отзыв поступил от д.х.н. *Жердева Анатолия Виталиевича*, ведущего научного сотрудника лаборатории иммунобиохимии ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (Москва). Он считает, что диссертационная работа имеет важное теоретическое и практическое значение, так как разработан комплекс научно-методических подходов о получении нанодисперсных препаратов с каталитической активностью и показанной эффективностью их применения в иммуно-аналитических системах.

В своем отзыве д.м.н., профессор *Козлов Иван Генрихович*, профессор кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Минздрава России (Москва) отмечает, что наиболее всего в диссертационном исследовании привлекает обилие современных методов исследования, включая различные виды электронной микроскопии и спектроскопических анализов.

Четвертый отзыв был получен от д.м.н., доцента *Литвиновой Ларисы Сергеевны*, директора Центра иммунологии и клеточных биотехнологий, профессора кафедры фундаментальной медицины ОНК «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» (Калининград). Она отмечает, что оригинальность исследования связана с разработкой способов белковых покрытий наночастиц, что способствует получению их устойчивых стабильных суспензий.

Пятый отзыв предоставлен д.м.н., доцентом *Сосниным Дмитрием Юрьевичем*, профессором кафедры факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава России (г. Пермь). В своем отзыве Соснин Д.Ю. говорит, что по существу предлагается и экспериментально подтверждается возможность замены традиционно используемого в клинической диагностике метода иммуноферментного анализа на метод, основанный на применении детектирующих реагентов, которые являются синтетическими наночастицами.

Шестой отзыв поступил от д.б.н. *Хайдукова Сергея Валерьевича*, старшего научного сотрудника лаборатории углеводов ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук (Москва). По его мнению, весьма впечатляет методическое сопровождение всей работы. Исследование актуальное и обладает существенным практическим потенциалом с точки зрения применения результатов в реальной диагностической практике.

Все авторы отзывов на автореферат считают, что в исследовании содержится решение проблемы, имеющей существенное значение для специальности 3.2.7. Иммунология, а именно, проблемы получения стабильных иммунодиагностикомов на основе наноматериалов. Работа соответствует требованиям ВАК, автор достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Уважаемые члены дис. совета, следующий этап работы – выступление официальных оппонентов. Слово предоставляется присутствующему очно официальному оппоненту, д.м.н., Долгих Олегу Владимировичу.

Долгих О.В., д.м.н., 1-й официальный оппонент. Оглашает положительный отзыв (*текст отзыва прил.*), задает вопросы:

1-й вопрос. Насколько актуальны разработанные Вами технологии с точки зрения дальнейшей их коммерциализации (промышленной воспроизводимости)?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Олег Владимирович, если говорить о ЯМР-иммуноанализе, то на данный момент мы не видим существенных перспектив его коммерциализации без проведения дальнейших исследований. Если говорить про диагностические реагенты на основе белковых наночастиц берлинской лазури и других миметиков пероксидазы хрена, то на настоящий момент они сопоставимы по своим свойствам с пероксидазой хрена. Дальнейшая работа будет связана с их совершенствованием: увеличением воспроизводимости, каталитических свойств и т.д.

Долгих О.В., д.м.н., 1-й официальный оппонент. 2-й вопрос. Насколько настоящее исследование повторяет выполненную работу в рамках подготовки Вами кандидатской диссертации?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Олег Владимирович, определенная степень преемственности, несомненно, существует. Кандидатская диссертация была посвящена разработке трехплексного анализа в формате твердофазного дот-иммуноанализа, колориметрического анализа антител к коклюшу, дифтерии и столбняку. В нем использовались в качестве диагностических реагентов наночастицы коллоидного углерода, покрытые белковой оболочкой и несущие на своей поверхности G белок стрептококка. Однако белковая оболочка служила лишь способом стабилизации коллоидного углерода, мы не исследовали свойства нанодиагностикумов. В докторской диссертации мы существенно расширили понимание того, как белковая оболочка влияет на свойства диагностикумов. Был расширен спектр белковых покрытий, наноматериалов и методов детекции в иммуноанализе, а также определяемых веществ. Кроме того, была разработана новая технологическая платформа для создания диагностических реагентов на основе белковых наночастиц.

Долгих О.В., д.м.н., 1-й официальный оппонент. 3-й вопрос. В работе приведены данные об апробации магнитных нанокластеров (10 образцов сыворотки), а также конъюгатов «берлинская лазурь-желатин А». По какой причине в работе не приведены данные об апробации других синтезированных нанодиагностикумов, в том числе, в сравнительном аспекте с традиционными методическими подходами, а также метрологические характеристики модифицированных методов (чувствительность, селективность, воспроизводимость, предел обнаружения)?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Олег Владимирович, мы не протестировали таким же образом наночастицы, содержащие гемин в качестве миметика пероксидазы хрена, поскольку не получили достаточной интенсивности сигнала и формы калибровочной кривой, хотя предел детекции был достаточным

для практического применения. Мы не видим существенных перспектив практического применения этого типа диагностикумов, поэтому для них подробное сравнение с известными методами не было проведено.

Долгих О.В., д.м.н., 1-й официальный оппонент. Благодарит за ответы. Оглашает заключение: Диссертация Храмцова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема получения иммунодиагностикумов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для специальности «Иммунология».

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости диссертация Храмцова П.В. полностью соответствует требованиям, установленным разделом II Положения о присуждении ученых степеней, (утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями от 21.04.2016, 02.08.2016 г., 29.05.2017 г., 28.08.2017 г., 01.10.2018 г., 20.03.2021 г., 11.09.2021 г., 26.09.2022 г., 26.01.2023 г., 18.03.2023 г., 26.10.2023 г., 25.01.2024 г.), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Павел Викторович, Вам слово.

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Олег Владимирович, я благодарю Вас за столь подробный отзыв, за большое внимание к моей работе. А также за то, что Вы нашли возможность и время присутствовать на защите диссертации.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Слово предоставляется официальному оппоненту, д.б.н., проф. Колесниковой Н.В. (она участвует в режиме онлайн).

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, 2-й официальный оппонент. Дает положительный отзыв (*текст отзыва прил.*), задает вопросы:

1-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, обычно для новых методов иммуноанализа проводится сравнение со стандартными методами, например, иммуноферментным анализом. Почему в Вашей работе нет такого сравнения?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемая Наталья Владиславовна, мы проводили сравнение с иммуноферментным анализом для ряда диагностикумов, в частности, магнитных наночастиц, в плане их применения для обнаружения противостолбнячных антител. Была показана хорошая корреляция с

иммуноферментным анализом. В целом, нас интересовало, смогут ли, в принципе, разрабатываемые диагностикумы приблизиться по своей эффективности к существующим диагностикумам, прежде всего, на основе пероксидазы хрена.

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, 2-й официальный оппонент. 2-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, в чем преимущество представленных в работе методик? Из литературы известны более чувствительные методы анализа, превосходящие даже существующие коммерческие тест-системы.

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемая Наталья Владиславовна, преимущества разрабатываемых диагностикумов – это более низкая себестоимость, независимость от доступности растительного сырья, а также большая воспроизводимость в сравнении с реагентами, которые выделяются из этого сырья.

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, 2-й официальный оппонент. 3-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, наночастицы берлинской лазури, по заявлению автора, обладают высокой пероксидазной активностью, однако в работе нет сравнения эффективности ферментных конъюгатов и конъюгатов на основе наночастиц.

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемая Наталья Владиславовна, мы сравнивали каталитическую активность наночастиц и пероксидазы хрена, и по своим характеристикам они практически идентичны с ней. Но так как мы не увидели существенного, скажем, на порядок или на два порядка превосходства берлинской лазури, то мы не видели необходимости более глубокого сравнения. Иммуноанализы на основе берлинской лазури сопоставимы по своим характеристикам с коммерческими тест-системами, но лишь сопоставимы. Они не превосходят их настолько существенно, чтобы это стимулировало проведение более глубоких исследований.

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, 2-й официальный оппонент. 4-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, в диссертационном исследовании для демонстрации работоспособности тест-систем используются два маркера: антитела против столбнячного анатоксина и простатспецифический антиген. Могут ли разработанные методы применяться для обнаружения других антигенов?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемая Наталья Владиславовна, такие исследования уже нами проведены, хотя и не вошли в эту диссертацию. Мы применяли диагностикумы на основе берлинской лазури в иммуногистохимии, для определения антител к SARS-CoV-2, а также маркера воспаления С-реактивного белка. Это доказывает, что спектр потенциальных мишеней не ограничивается противостолбнячными антителами и простатспецифическим антигеном.

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, 2-й официальный оппонент.

Благодарит, зачитывает *заключение*: Диссертация Храмцова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа» является самостоятельно выполненной, законченной 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. Диссертация полностью соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями от 25.01.2024), а ее автор Храмцов П.В. заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности: 3.2.7 Иммунология.

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Благодарю вас, уважаемая Наталья Владиславовна, за Ваш подробный, столь хвалебный отзыв, весьма приятный для меня. Опять же, благодарю Вас за то, что Вы помогли мне в столь трудное время.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Предоставляет слово третьему официальному оппоненту, д.б.н., профессору Карамову Эдуарду Владимировичу.

Карамов Э.В., д.б.н., профессор, 3-й официальный оппонент. Оглашает положительный отзыв (*текст отзыва прил.*), задает *вопросы*, которые носят дискуссионный характер и не снижают значимости диссертационной работы Храмцова П.В.

1-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, в диссертационном исследовании представлены тест-системы для обнаружения IgG человека и простатспецифического антигена. Могут ли разработанные наночастицы быть использованы для выявления других клинически значимых молекул, например, вирусных и бактериальных антигенов?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Эдуард Владимирович, мы использовали наночастицы для обнаружения другого типа иммуноглобулинов, а именно иммуноглобулина Е, антител против коронавируса SARS-CoV-2, С-реактивного белка. Используя соответствующие пары антиген-антитело могут быть разработаны тест-системы на разные антигены с учетом потенциальных неспецифических взаимодействий диангностикумов с иммуносорбентом.

Карамов Э.В., д.б.н., профессор, 3-й официальный оппонент. *2-й вопрос.* Уважаемый Павел Викторович, Вы показали возможность использования разных белковых покрытий, однако на этот счет есть достаточное количество работ (многие из которых процитированы в диссертации). Какие новые данные были получены в этом отношении в ходе выполнения диссертационного исследования?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Эдуард Владимирович, в настоящее время белковые покрытия используются для стабилизации наноматериалов в *in vivo* применениях, коллоидной химии, а также в *in vitro* диагностике. Наиболее важным отличием является сравнительное исследование белковых оболочек разных типов и связанные с этим обобщения, касающиеся свойств различных белковых покрытий, суммированные в продемонстрированной мной таблице. Именно эти знания составляют новизну исследования.

Карамов Э.В., д.б.н., профессор, 3-й официальный оппонент. 3-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, почему не проводилось прямое сравнение пероксидазных конъюгатов и наночастиц?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Эдуард Владимирович, мы сравнивали пероксидазные конъюгаты и наночастицы в плане их каталитической активности, если быть точным, в плане специфической активности, то есть каталитической активности на единицу массы материала. В зависимости от типа синтезированных частиц, они либо немного превосходили, либо были равны, либо уступали пероксидазе хрена. По своим аналитическим характеристикам иммуноанализы на основе пероксидазы и наночастиц были сопоставимы.

Карамов Э.В., д.б.н., профессор, 3-й официальный оппонент. 4-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, в работе недостаточно внимания уделено вопросу специфичности тест-систем. Проводились ли исследования, посвященные отсутствию перекрестных реакций?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Эдуард Владимирович, мы наблюдали перекрестные реакции наших диагностических реагентов с иммуноглобулинами. Эта особенность характерна для различных белковых покрытий, которые поперечно сшиты глутаровым альдегидом. Наночастицы с таким покрытием неспецифически взаимодействуют с иммуноглобулинами, находящимися на иммуносорбенте. Эта проблема решается добавлением казеина или казеината натрия в блокирующий раствор в концентрациях 0,5-2%.

Карамов Э.В., д.б.н., профессор, 3-й официальный оппонент. 5-й вопрос. Уважаемый Павел Викторович, хотелось бы понять мотив использования аналогов пероксидазы хрена. Пероксидаза отлично зарекомендовала себя за многие годы. Известны и полимерные формы пероксидазы, которые дают усиленный сигнал. Чем обосновано предпочтение использования аналогов вместо пероксидазы хрена?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Уважаемый Эдуард Владимирович, предпочтение обосновано тем, что пероксидазу хрена необходимо выделять из природных источников, процедура очистки очень длительная, многоступенчатая, что существенно увеличивает себестоимость фермента. Также свойства

пероксидазы зависят от условий выращивания хрена, поскольку это влияет на изоформный состав фермента.

Карамов Э.В., д.б.н., профессор, 3-й официальный оппонент. Оглашает заключение. Диссертация Храмцова Павла Викторовича на тему «Применение наночастиц с белковым покрытием в качестве диагностических реагентов для иммуноанализа», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема получения иммунодиагностикомов на основе наноматериалов, имеющая важное значение для биологии, а именно, для специальности «Иммунология».

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям, установленным разделом II Положения о присуждении ученых степеней (утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями от 21.04.2016, 02.08.2016 г., 29.05.2017 г., 28.08.2017 г., 01.10.2018 г., 20.03.2021 г., 11.09.2021 г., 26.09.2022 г., 26.01.2023 г., 18.03.2023 г., 26.10.2023 г., 25.01.2024 г.), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Благодарит за помощь, за то, что нашлось время в очень плотном графике для того, чтобы посетить защиту лично. Благодарит за идею использовать наработки применительно к обнаружению антиботулинических антител.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Уважаемые члены дис. совета, на этом мы заканчиваем выступление официальных оппонентов и можем приступить к дискуссии.

Пожалуйста, кто из членов дис. совета хочет принять участие в обсуждении работы? Слово предоставляется д.б.н. Бердюгиной Ольге Викторовне.

Бердюгина О.В., д.б.н. Я выступлю против данной работы. Если сказать в общем, то работа посвящена не применению наночастиц, как она называется, а получению наночастиц, потому что речь идет об измерении давления, pH, скорости центрифугирования, концентрации и всему прочему, то есть имеет мало отношения к иммунологии.

На странице 192 диссертации указано, что мононуклеарные клетки периферической крови – это смесь клеток с ядром круглой формы, включая Т-, В-, НК- клетки и моноциты, несмотря на то, что моноциты не имеют круглого ядра.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Слово предоставляется д.б.н., доценту Даниловой Ирине Георгиевне

Данилова И.Г., д.б.н., доцент. Уважаемые коллеги, за все время работы нашего Совета такая диссертация у нас рассматривается впервые. Это диссертация с практической направленностью, которая отличается от традиционных фундаментальных исследований в области иммунологии. Она имеет очень большую важность, потому что необходимо в нашей стране создавать свои новые методы диагностики. Пусть это сложная и долгая работа, но она должна осуществляться. Поэтому я считаю, что эту работу, несомненно, нужно поддержать. Помимо прочего она содержит серьёзные фундаментальные разработки, которые, пусть и касаются аналитических и физико-химических методов, но целью диссертационного исследования является разработка иммунологических методов. Это обуславливает ее соответствие специальности 3.2.7. Иммунология

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик РАН, д.м.н., профессор. Согласно п. 6 Паспорта научной специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология, этой специальности соответствуют работы, посвященные «Разработке и усовершенствованию методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов».

Павел Викторович, поясните, пожалуйста, почему в названии Вашей работы фигурирует именно слово «применение», а не «получение»?

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Разумеется, можно было бы назвать работу, может быть, и «получение диагностических реагентов». Но диагностический реагент становится реагентом, именно тогда, когда его применяют в иммуноанализе. Получение реагентов, само по себе, важно с точки зрения понимания их свойств, оценки перспектив их дальнейшего реального применения, однако целью работы была именно разработка диагностикумов для иммуноанализов. Методы синтеза и исследования наночастиц, были лишь инструментом для создания эффективных диагностических реагентов для иммуноанализа. Основная идея работы – применение реагентов, применение диагностикумов.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. Небольшое уточнение по поводу специальности. Валерий Александрович огласил, что в паспорте звучит название специальности «Аллергология и иммунология». Сейчас специальность называется «Иммунология». Это произошло во время реформы в ВАКе и перераспределении специальностей. Специальность 3.2.7. ранее называлась «Аллергология и иммунология». После того, как утвердили специальности и разработали их паспорта, отдельным приказом вышло

переименование некоторых специальностей без внесения корректировок в суть паспортов специальностей. Эти документы у нас в совете есть, шифр специальности не изменился, мы работаем по специальности 3.2.7. Иммунология.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Если больше никто не хочет выступить, в том числе члены дис. совета, работающие дистанционно, то на этом этапе завершим дискуссию. Заключительное слово предоставляется Храмцову П.В.

Храмцов П.В., к.б.н., соискатель. Благодарит диссертационный совет за возможность защищать работу, благодарит научных консультантов, оппонентов и коллег.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Голосование по результатам защиты диссертации Храмцова П.В. будет осуществляться путем электронного голосования. В соответствии с регламентирующими документами Министерства образования РФ счетная комиссия в данном случае не выбирается, бумажные бюллетени не используются. Для объяснения информации о том, как будет проводиться голосование, слово предоставляется ученому секретарю Журавлёвой Юлии Александровне.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. В телеграм-чате, в который добавлены все присутствующие (очно и в дистанционном формате) члены дис. совета, есть возможность выбрать два варианта: «за» или «против».

Процедура голосования

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Уважаемые члены дис. совета, завершаем голосование, итоги голосования огласит ученый секретарь дис. совета, к.б.н. Журавлёва Юлия Александровна.

Журавлёва Ю.А., ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01, к.б.н. Голосование состоялось и сегодня, 09.10.2024 г., *результаты голосования* по защите диссертации Храмцову П.В. следующие: «**за**» присуждение ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология проголосовало **15 человек**, «**против**» – **1 человек**.

Черешнев В.А., председатель дис. совета 24.1.063.01, академик, д.м.н., профессор. Благодарит. Голосуем за утверждение результатов голосования. Результаты голосования утверждены единогласно, поздравляем Павла Викторовича с успешной защитой диссертации.

И последнее, что нам предстоит, посмотреть и утвердить заключение диссертационного совета. Заключение есть у всех членов дис. совета. Просит вывести заключение на экран.

Пожалуйста, Ваши замечания (замечаний нет). Давайте проголосуем, кто «за»? Кто «против»? Нет. Открытым голосованием Заключение дис. совета утверждается единогласно.

В соответствии с п.32 «Положения о присуждении ученых степеней» единогласным открытым голосованием принимается следующий текст заключения:

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая экспериментальная методика получения и контроля качества иммунодиагностикумов на основе альбуминовых и желатиновых наночастиц, позволившая повысить точность иммуноферментного анализа;

предложен нетрадиционный подход к получению диагностических реагентов для колориметрического иммуноанализа, представляющих собой конъюгаты наночастиц берлинской лазури, покрытых желатином, с широким спектром аффинных соединений, включающим в себя моноклональные антитела, G белок стрептококка и стрептавидин;

доказана перспективность использования разработанных диагностикумов для количественного обнаружения простатспецифического антигена и противостолбнячных антител;

введены новые понятия о многофакторном влиянии структуры белкового покрытия наночастиц на функциональную активность диагностикумов: физико-химическую стабильность, диффузию хромогенного субстрата, неспецифические взаимодействия с белками сыворотки крови, чувствительность к воздействию протеолитических ферментов;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны положения о возможности управления теми свойствами диагностических реагентов на основе наноматериалов, которые оказывают непосредственное влияние на аналитические и технологические параметры иммуноанализов: нижний предел детекции, форму калибровочной кривой, стабильность диагностикумов при хранении и транспортировке;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе численных методов, экспериментальных методик, позволивший получить новые данные о свойствах иммунодиагностикумов и предоставивший принципиально новые возможности для их усовершенствования;

изложены аргументы, доказывающие, что метод десольватации может выступать в качестве универсальной платформы для синтеза наноразмерных диагностикумов, включающих в себя широкий спектр меток, как каталитических, так и флуоресцентных;

раскрыты существенные проявления теории о свойствах наноматериалов с различными типами белковых покрытий, а именно то, каким образом структура белкового покрытия и способ его ковалентной стабилизации влияют на свойства диагностических реагентов;

изучены факторы достижения максимального сигнала в иммуноанализе, основанного на использовании наноразмерных материалов с белковыми покрытиями;

проведена модернизация алгоритмов приготовления субстратных буферов, что позволило существенно снизить пределы обнаружения колориметрических иммуноанализов на основе наночастиц;

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны и внедрены:

- технологии определения иммуноглобулинов класса G - в научно-исследовательскую деятельность лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии ИЭГМ УрО РАН;

- образовательные технологии - в учебный процесс кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ в лекционном курсе «Стереоспецифические взаимодействия»;

определены пределы и перспективы практического использования в иммуноанализе диагностических реагентов на основе магнитных железоуглеродных наночастиц, а также наночастиц, обладающих каталитической пероксидазоподобной активностью;

создана система практических рекомендаций, которая позволяет синтезировать диагностические реагенты для иммуноанализов, представляющие собой белковые наночастицы, инкапсулированные метками различной природы (цветные, каталитические, флуоресцентные и т.д.);

представлены предложения по дальнейшему совершенствованию диагностикумов на основе пероксидазы из корней хрена и наночастиц, обладающих наиболее высокой пероксидазной активностью, в частности, наночастиц на основе соединений платины, металлсодержащих графеноподобных структур и наночастиц берлинской лазури.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что

результаты получены на сертифицированном оборудовании; эксперименты выполнены в нескольких реальных или технических повторностях, что обеспечивает воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;

теория построена на известных проверяемых данных и согласуется с опубликованными ранее исследованиями по проблеме применения наноматериалов в иммунодиагностике;

идея базируется на анализе практики и обобщения передового опыта в области иммунобиологии;

использовано сравнение авторских данных и результатов опубликованных ранее работ по вопросам исследования структурно-морфологических характеристик синтезируемых материалов и оптимизации синтетических процессов;

установлено качественное и количественное совпадение полученных в исследовании результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки результатов исследований, адекватные поставленным задачам.

Личный вклад автора состоит во включенном участии на всех этапах процесса: планировании научной работы, определении методологии и общей концепции диссертационного исследования, основной идеи, цели и постановке задач, в получении и анализе экспериментальных данных, апробации результатов исследования, подготовке публикаций по выполненной диссертации.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы, соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, концептуальности и взаимосвязи выводов с поставленной целью и задачами.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

- в работе большое внимание уделено получению наночастиц, в меньшей степени - их применению, желательно было бы сделать акцент на теоретические аспекты использования разработанных диагностикумов;

- в главе «Материалы и методы» приведено не совсем корректное определение моноклеарных клеток.

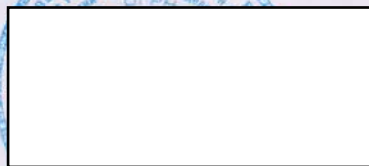
Соискатель Храмцов П.В. принял к сведению замечания, ответил на задаваемые в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию.

Диссертационная работа Храмова П.В. является самостоятельно выполненным научно-квалификационным исследованием, которое вносит существенный вклад в развитие специальности 3.2.7. Иммунология, т.к. в

исследовании решена значимая для биологической отрасли науки проблема получения стабильных иммунодиагностикомов на основе наноматериалов, а также представлены новые научно обоснованные технологические решения, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие научной специальности 3.2.7. Иммунология.

Диссертационная работа Храмцова П.В. по актуальности проблемы, новизне результатов, научно-практической значимости соответствует требованиям раздела II «Положения о присуждении учёных степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, с изменениями и дополнениями от 30.07.2014 г., 21.04.2016 г., 02.08.2016 г., 29.05.2017 г., 28.08.2017 г., 01.10.2018 г., 20.03.2021 г., 11.09.2021 г., 26.09.2022 г., 26.01.2023 г., 18.03.2023 г., 26.10.2023 г., 25.01.2024 г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Председатель дис. совета 24.1.063.01
на базе ИИФ УрО РАН,
академик РАН, д.м.н., проф.



В.А. Черешнев

Ученый секретарь дис. совета 24.1.063.01
на базе ИИФ УрО РАН,
к.б.н.



Ю.А. Журавлёва

«09» октября 2024 года