

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу "Модификация поверхности кремниевого нанопроволочного полевого транзистора для индикации вирусных частиц в реальном времени" Черемискиной Анастасии Алексеевны, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Диссертационная работа посвящена исследованию методов функционализации поверхности нанопроволочного биосенсора (НП-биосенсора) для создания способа экспресс-детекции вирусов, поиску и развитию методов очистки и подготовки поверхности НП-биосенсора, а также оптимизации топологии НП-биосенсора. В настоящее время значительные силы и средства сосредоточены на создании ультрачувствительных и специфичных биосенсорных устройств, позволяющих в режиме реального времени проводить детекцию вирусов. Данные исследования чрезвычайно важны для совершенствования систем диагностики и терапии в местах оказания первой помощи. Несмотря на очевидные успехи в этих направлениях, соответствующее оборудование, в данный момент времени, остаётся недоступным для широкого использования. Существующие подходы, в большинстве своем, требуют наличия дорогостоящего оборудования и высококвалифицированных специалистов для получения достоверных результатов и их интерпретации.

В то же время, при лечении и профилактике инфекционных заболеваний, при выполнении исследовательских работ в области экологии микроорганизмов требуются методы и оборудование, позволяющие быстро, недорого, на базе обычной клиники или даже в полевых условиях проводить анализ образцов на присутствие вирусных частиц.

Исследования, проводимые А.А. Черемискиной, посвящены актуальным вопросам стандартизации и оптимизации подходов для

использования НП-биосенсоров. В диссертационной работе уделено внимание способам очистки и подготовки поверхности НП-биосенсора, а также детекции вирусных частиц. Отдельно стоит отметить технологическую часть, направленную на оптимизацию топологии НП-биосенсора, что несомненно актуально для практического использования сенсора.

Диссертация построена по классической схеме и содержит все необходимые части, а именно введение, обзор научной литературы по теме исследования, описание экспериментальной части, изложение результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Работа представлена на 132 страницах, содержит 34 рисунка и 10 таблиц, а также 4 приложения. Библиография включает 221 литературных источников.

Обзор литературы, главным образом, посвящён методам детекции вирусов, а также методам очистки и функционализации поверхности биосенсора. Обзор изложен на 36 страницах и содержит около 200 ссылок, достаточно полно отражающих существующие методы и подходы. Материал представлен хорошим языком, в достаточно критическом стиле. В то же время, местами изложение материала приведено совсем, что не является критическим замечанием и скорее отражает авторский стиль.

Экспериментальная часть содержит описание всех методов и подходов, представленных в работе.

В основной части диссертационной работы представлены результаты, полученные автором при изучении эффективности методов очистки сенсорной поверхности. Продемонстрированы возможности физической и химической очистки поверхностей, имитирующих сенсорные. Приведены эксперименты по физической адсорбции и ковалентной иммобилизации

антител. Продемонстрированы возможности НП-биосенсора при выявлении вирусных частиц.

В работе также разработана конструкция опытно-промышленного НП-сенсора с n-типом проводимости (подтверждена патентом РФ), направленная на упрощение использования электрода заземления.

В диссертационной работе получены экспериментальные данные, которые могут быть использованы для разработки методики детекции вирусов.

А.А. Черемискина в своей работе активно и грамотно использует необходимые подходы органической химии, молекулярной биологии, физической химии, физики и инструментальных методов анализа. В целом, работа представляет интерес для научных организаций и фирм, занимающихся разработкой методов выявления вирусов, и является примером современных подходов в биотехнологии.

Однако не смотря на все указанные преимущества, необходимо отметить и некоторые замечания.

1. Экспериментальная часть содержит описание методов и подходов, представленных в работе, но местами требует пояснений и дополнений.

2. В работе несколько раз встречаются формулировка: «Эффективность ковалентного связывания оценивали путем детекции вируса гриппа А» или других вирусов по тексту. Однако в работе и в тексте диссертации не исследована эффективность ковалентной иммобилизации.

3. Автором в первой части работы проводится сравнения разных типов очистки сенсорной поверхности, анализ степени очистки проведен методом атомно-силовой микроскопии, но никак не продемонстрировано

влияние этой очистки на состояние сенсора, его физико-химические и вольт-амперные характеристики.

4. В работе при иммобилизации антител использована высокая концентрация (25% в этаноле) АПТЭС, что может приводить к наблюдаемым автором «на поверхности участки с высотой до 9 нм». При этом автор не пробовал варьировать концентрацию реагента с целью найти оптимальный вариант.

5. Местами отсутствуют вольт-амперные характеристик сенсоров, не очевиден выбор напряжения для проведения анализа.

6. В некоторых экспериментах (например, пункт 3.4.3) не хватает контролей при проведении детекции вирусных частиц, гарантирующих реакцию сенсора именно на них, а не на сопутствующие компоненты.


7. Не обсуждены вопросы специфичности проведенных исследований.

Тем не менее, изложенные замечания не снижают ценности работы, которая представляет собой законченное исследование, имеющее большой потенциал для развития в областях биоорганической химии, молекулярной биологии, медицины и биотехнологии. Диссертация написана хорошим языком, полученные выводы закономерно следуют из экспериментальных данных. Автором продемонстрировано прекрасное владение методами эксперимента. Полученные результаты представляют несомненный интерес для целого ряда Приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в РФ. Материал диссертационной работы частично отражен в публикациях в ведущих рецензируемых научных журналах.

Таким образом, диссертационная работа Черемискиной Анастасии Алексеевны "Модификация поверхности кремниевого нанопроволочного полевого транзистора для индикации вирусных частиц в реальном времени" отвечает критериям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а

её автор к присуждению искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Официальный оппонент:

Кандидат химических наук по специальности 02.00.10 «Биоорганическая химия», старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской Академии Наук. *26.02.2024*  Е.В. Дмитриенко

Почтовый адрес:

630090, Россия, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 8. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН). Тел. +7(383)-363-51-50. Факс +7-(383)363-51-53. E-mail niboch@niboch.nsc.ru.

Подпись с.н.с., к.х.н. Дмитриенко Елены Владимировны заверяю:

Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН



 Е.Б. Логашенко