

«Утверждаю»

Проректор Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»



Андрей Анатольевич Федянин
Андрей Анатольевич Федянин

«19» января 2024 г.

Отзыв

ведущей организации ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» на диссертационную работу Пиденко Павла Сергеевича на тему «Молекулярный импринтинг с использованием белковых молекул: создание сорбентов и их применение в иммуноанализе», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности: 1.4.2. Аналитическая химия

Актуальность темы диссертационной работы. Задачи селективного определения веществ, и особенно высокомолекулярных соединений биологического происхождения, требуют разработки эффективных рецепторных систем, позволяющих детектировать такие соединения, и пригодных для анализа сложных матриц. Традиционно используемые для этой цели природные высокоспецифичные реагенты, которыми являются ферменты и полинуклеотиды, не лишены ряда недостатков, к главным из которых следует отнести низкую устойчивость к изменениям факторов среды и относительную сложность работы с ними при создании систем для химического анализа. Перспективной альтернативой являются полимеры с молекулярными отпечатками (молекулярно импринтированные полимеры, МИП), представляющие собой искусственные распознающие фазы, селективные по отношению к заданному кругу аналитов. Важной научной задачей является разработка способов получения и создание новых типов МИП, выявление их аналитических возможностей и разработка с их применением способов определения низко- и высокомолекулярных аналитов. Эти аспекты определяют актуальность диссертационной работы П.С. Пиденко.

Научная новизна представленной работы определяется тем, что в ней обоснованы новые способы получения МИП на основе полианилина, полиуретана и

поливинилпирролидона, специфичных к пероксидазе хрена, как представителю высокомолекулярных аналитов; получены новые научные данные о молекулярном импринтинге альбуминов и ферментов, предложены пути получения импринтированных белков, селективных в отношении таких низкомолекулярных веществ, как зеараленон, 4-гидроксикумарин и кумарин; показана возможность контроля степени очистки импринтированных белков методом двумерной флуоресцентной спектроскопии; предложен подход к получению сорбента на основе наночастиц силикагеля, модифицированных импринтированной глюкозооксидазой, для твердофазной экстракции зеараленона.

Практическая значимость работы обусловлена тем, что разработаны схемы получения селективных фаз МИП на основе полианилина, полиуретана, поливинилпирролидона, а также импринтированных белков для извлечения ряда аналитов; предложены способы определения пероксидазы хрена и овальбумина, как представителей высокомолекулярных веществ, а также зеараленона, в качестве представителя низкомолекулярных приоритетных аналитов, с применением разработанных МИП; кроме того, получен новый сорбент на основе импринтированного белка и коммерческих наночастиц диоксида кремния для твердофазной экстракции зеараленона.

Объём и структура диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 138 страницах текста, содержит 42 рисунка и 7 таблиц и состоит из введения, 5 глав, включая обзор литературы, экспериментальную часть и 3 главы, где излагаются и обсуждаются основные полученные в работе результаты, а также заключения и списка литературы (151 наименование). Приведенные в работе сведения позволяют детально воспроизвести полученные результаты. Сами результаты грамотно и полно обсуждены с привлечением специальных знаний из области аналитической химии и других областей химии. Научные положения, выдвигаемые в диссертации, выводы и рекомендации надежно обоснованы. Диссертация обладает внутренним единством и написана грамотно.

Достоверность результатов диссертации подтверждена применением современных методов исследования (флуоресцентной, абсорбционной и ИК-спектроскопии, высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием и жидкостной хроматомасс-спектрометрии, оптической и сканирующей электронной микроскопии, метода динамического светорассеяния, гель-электрофореза и эксклюзионной хроматографии), приведенным набором статистических экспериментальных данных, а также согласованностью полученных результатов между собой и с литературными данными.

Представленные в диссертационной работе результаты исследований прошли достаточную апробацию на профильных конференциях Всероссийского и

международного уровня. Основные результаты диссертационного исследования изложены в 8 публикациях в журналах, рекомендуемых ВАК, из которых 4 относятся к высокорейтинговым международным изданиям, и 5 тезисах докладов. Кроме того, по результатам работы получен 1 патент. Значимость проведенных исследований подтверждается их широкой поддержкой в рамках грантов РФФИ, РНФ, Министерства образования и науки РФ, а также стипендией Президента РФ молодым ученым и аспирантам.

Диссертационная работа характеризуется рядом достоинств. В частности, стоит отметить большое число изученных систем с МИП и их разнообразие. Так, исследованы системы, синтезированные на внутренней поверхности поликапилляров и на планарных предметных стеклах; использовано несколько типов матриц МИП – полианилин, полиуретан, поливинилпирролидон, три варианта импринтированных белков – бычий сывороточный альбумин, овальбумин и глюкозооксидаза, причем МИП получены как «в пробирке», так и на поверхности микропланшета, в поликапиллярной системе или на поверхности наночастиц диоксида кремния. Заслуживают внимания высокие показатели специфического связывания аналита, достигнутые в случае МИП на основе полианилина (импринтинг-фактор > 10). Автором предложен эффективный способ визуализации отмывки импринтированного белка от темплата, основанный на использовании двумерной флуоресцентной спектроскопии, который представляется весьма перспективным для простого и экспрессного контроля состояния импринтированных белков. Хотелось бы также отметить важность того, что автором разработаны схемы получения импринтированных белков с использованием менее токсичных аналогов зеараленона; данные схемы могут быть рекомендованы для улучшения экологичности процесса получения МИП.

Вместе с тем, по работе имеются следующие **замечания**:

1. В цели диссертационной работы и в п. 1 заключения говорится о разработке «методов получения МИП». Использование такого широкого понятия, как «метод», представляется в данном случае не вполне оправданным (особенно широко заявлена цель работы). В классическом понимании этого термина, использованные в данной работе методы синтеза МИП, как класса селективных фаз, уже хорошо известны (и достаточно детально обсуждены в обзоре литературы). Стоило бы вести речь лишь о разработке способов получения конкретных типов МИП.

2. В главе «3.2. Аналитические характеристики ПАНИ МИП» речь идет, в том числе, о расчете сорбционной емкости, которая обычно выражается как количество или масса сорбата на единицу площади поверхности или массы сорбента. При этом в качестве результатов оценки этой величины в работе даны оптические плотности в растворе и на мультикапилляре, а также степени извлечения аналита из раствора (%),

то есть параметры, сами по себе не являющиеся характеристиками сорбционной емкости. Аналогичное замечание может быть отнесено к последней части главы 5.3.2.

3. За исключением отдельных качественных описаний, экспериментальных подтверждений выбора оптимальных условий синтеза МИП на основе полианилина, его отмывки от темплата, а также проведения с его помощью определения пероксидазы хрена в работе не приводится. Поэтому в этом вопросе приходится полагаться только на личный опыт автора.

4. Как следует из заголовка табл. 4 диссертации (и табл. 4 автореферата), анализ каждого образца пшеницы проводили трижды. В таком случае, следовало бы привести доверительные интервалы для указанных средних значений или иные оценки повторяемости (например, относительное стандартное отклонение, как это сделано в других подобных таблицах). Отсутствие характеристик случайных погрешностей делает невозможной оценку значимости расхождения результатов анализа предлагаемым и независимым методом.


5. В тексте диссертации встречаются неудачные термины и словосочетания, опечатки. Например, «предел *количественного* определения» (определение уже подразумевает количественный анализ); «предполимеризованный раствор» (вместо «предполимеризационный»); «иммобилизация *раствора* пероксидазы хрена» (вместо «иммобилизация пероксидазы хрена *из раствора*»); в первой части главы 2.2.4 заявлено использование 3-аминопропилтриметоксисилана, при этом аббревиатура (АПТЕС) соответствует 3-аминопропилтриэтоксисилану; для напряжения при электроспиннинге дана размерность «кэВ» (килоэлектронвольты); об обозначениях (а), (б) и (в) на рис. 11 диссертации удастся узнать только из автореферата, где они даны явно; заключительный абзац на стр. 80 в точности дублирует последнюю часть текста на стр. 78; в заключении к главе 4 перепутаны пределы обнаружения для МИП на основе полиуретана и поливинилпирролидона.

Следует при этом подчеркнуть, что сделанные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы П.С. Пиденко и не снижают ее научной и прикладной значимости. Результаты диссертационного исследования представляют интерес для специалистов, выполняющих исследования в области аналитической химии и занимающихся проблемами молекулярного импринтинга и создания селективных рецепторных слоев, а также могут быть рекомендованы для проведения научных исследований в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова (г. Москва), Санкт-Петербургском государственном университете (г. Санкт-Петербург), Казанском государственном университете (г. Казань), Саратовском государственном университете им. Н.Г. Чернышевского (г. Саратов), Воронежском государственном университете (г. Воронеж), Самарском государственном университете и Самарском государственном техническом

университете (г. Самара), ГЕОХИ имени В.И. Вернадского РАН (г. Москва) и др., а также в учебных курсах по аналитической химии, сорбционным и иммуноаналитическим методам. Таким образом, диссертационная работа Пиденко Павла Сергеевича является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития аналитической химии. Диссертация соответствует требованиям п. 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Пиденко Павел Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 Аналитическая химия.


Отзыв подготовил:

главный научный сотрудник кафедры аналитической химии
химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова,
доктор химических наук (специальность 02.00.02 – аналитическая химия)


_____ (Владимир Владимирович Апяри)

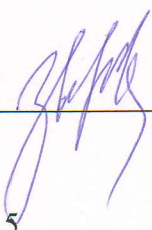
Отзыв заслушан и утвержден на заседании кафедры аналитической химии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, протокол заседания № 3 от 17 января 2024 г.

Заведующий кафедрой аналитической химии
химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова,
д.х.н., проф.


_____ (Михаил Алексеевич Проскурнин)

Почтовый адрес: 119991 Москва, Ленинские горы, д.1, стр.3, Химический факультет
МГУ имени М.В. Ломоносова, каф. аналитической химии
Телефон: (495)939-46-08
Электронная почта: apyari@mail.ru

Зам. декана химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова
по научной работе
д.х.н., проф.


_____ (Мария Эмильевна Зверева)