

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

**Стойновой Анастасии Михайловны**

**«Влияние наночастиц различной природы на иммунологические свойства аутоантител при создании диагностических конъюгатов «наноноситель-биолиганд»»,**

представленную в Диссертационный совет 99.0.027.03

при Российском химико-технологическом университете им. Д.И. Менделеева

на соискание степени кандидата химических наук

по специальности 1.5.6. Биотехнология

Конъюгаты состава «носитель-антитело» успешно используются в области иммунодиагностики различных биологически-активных веществ, а также широкого ряда патологических изменений живых организмов.

Рассматриваемая диссертационная работа Стойновой А.М. «Влияние наночастиц различной природы на иммунологические свойства аутоантител при создании диагностических конъюгатов «наноноситель-биолиганд» посвящена оптимизации процессов получения и применения конъюгатов на основе различных дисперсных носителей и моноклональных антител.

**Актуальность работы** обусловлена необходимостью повышения эффективности регулирования иммунологических свойств моноклональных антител к тиреоглобулину щитовидной железы. Результаты комплексной оценки химической природы носителей биолигандов позволят определить оптимальные пути развития методик детектирования таких биологически важных соединений, как тиреоглобулины щитовидной железы.

Таким образом, актуальной задачей является синтез носителей биолигандов, получение конъюгатов на их основе и определение условий их применения.

**Научная новизна** работы состоит в определении взаимосвязи между химической природой дисперсных носителей биолигандов и иммунологической активности моноклональных антител к различным эпитопам ТГ, что явилось

основой для создания методологии регулирования биологической активности моноклональных антител тиреоглобулина. Установлено, что при использовании наночастиц серебра в качестве основы диагностических конъюгатов «наноситель-антитело» наблюдается дозо-зависимый эффект усиления сигнала ИФА на 100 %.

Работа обладает **практической значимостью**, которая обусловлена тем, что полученные данные могут быть использованы для получения широкого ряда наноносителей с заданным комплексом свойств. Диагностические тест-системы, основанные на этих наночастицах, могут быть использованы для определения маркеров аутоиммунных заболеваний, что подтверждено получением Свидетельства о государственной регистрации базы данных № № 2019622171 от 25.11.2019. Полученные результаты позволили разработать базу данных диагностических тест-систем на основе серологических методов, для определения вирусных, бактериальных и аутоиммунных заболеваний, что подтверждено получением Свидетельства о государственной регистрации базы данных № 2018622011 от 11.12.2018г

Диссертация изложена на 113 страницах машинописного текста, включая 12 таблиц и 40 рисунков. Список литературы содержит 152 работы.

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована ее цель и основные задачи, описана научная новизна и практическая значимость работы.

**В первой главе** проводится литературный обзор, содержащий представление о методах синтеза наночастиц металлов их физико-химических свойствах. Подробно рассматриваются аспекты взаимодействия наночастиц с молекулами белков: адсорбция, свойства адсорбционного слоя, ориентация, изменение конформационного состояния макромолекул биолигандов и особенности взаимодействия иммобилизированных на поверхности наночастиц молекул белка с тестируемыми биологическими объектами.

**Во второй главе** приводится описание реактивов, использованных для получения носителей биолигандов (наночастиц металлов и полистирольных

частиц). Представлены методики получения конъюгатов. Описаны методы исследования дисперсных частиц и конъюгатов полученных на их основе. Приведена схема экспериментов по исследованию влияния наночастиц на иммунологические свойства антител.

**Третья глава** посвящена описанию и анализу экспериментальных работ по синтезу наночастиц, получению конъюгатов и комплексному изучению физико-химических характеристик синтезированных объектов. Заметную часть представленной экспериментальной работы занимает апробация разработанных конъюгатов на панели сывороток крови.

Получены наночастицы серебра и золота со средним диаметром 40 нм, методом гетерофазной полимеризации синтезированы полистирольные частицы (St1) – 49 нм и (St2) – 706 нм с узким распределением частиц по размерам, определены физико-химические характеристики синтезированных объектов. Проведена иммобилизация моноклональных антител к различным эпитомам ТГ (MкАТ1 и MкАТ2) на поверхности полученных частиц методом физической адсорбции.

Проведен сопоставительный анализ иммунологической активности моноклональных антител, иммобилизированных в полученных конъюгатах. Эти исследования позволили установить влияние химического состава носителя на специфичность моноклональных антител в полученных конъюгатах. Цикл экспериментальных работ был завершён апробированием разработанной тест-системы на панели сывороток крови 60 пациентов с установленным диагнозом заболеваний щитовидной железы и без диагноза. Полученные результаты показали, что специфичность проведенных тестов составила 96,6 %, чувствительность - 90 %.

В заключении третьей главы представлены **выводы** по диссертационной работе, отражающие основные результаты представленной диссертационной работы.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации представлены на 6 научных конференциях всероссийского и международного уровня. По результатам работы опубликовано 10 печатных работ, из которых 2 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России, 3 статьи и 2 тезиса в журналах, представленных в международных базах данных Scopus и Web of Science. По результатам исследования получено 2 свидетельства о регистрации баз данных.

**Достоверность** результатов работы и обоснованность основных выводов автора подтверждается использованием комплекса взаимодополняющих современных апробированных методов исследования, воспроизводимостью результатов экспериментов. Полученные закономерности согласуются с результатами других авторов, изучающих системы нанонасителей библигандов и конъюгаты с моноклональными антителами, полученные на основе металлических и полимерных дисперсных частиц.

По материалам диссертационной работы Стойновой А.М. оппонент сформулировал следующие **замечания**:

1. Непропорционально большой объем литературного обзора посвящен вопросам синтеза наночастиц металлов. При этом, абсолютно отсутствует информация о других, несвязанных с использованием наноразмерных твердых частиц, методах формирования конъюгатов, содержащих моноклональные антитела.

2. В обсуждении результатов не использовалась информация, приведенная в литературном обзоре, по влиянию твердой поверхности частиц носителя на конформационное состояние макромолекул белка и, следовательно, на иммунобиологические свойства полученных конъюгатов.

3. На рис. 3.9.а представлено распределение наночастиц серебра в зависимости от величины их дзетта-потенциала. В работе не дано объяснение полученного бимодального распределения частиц по величинам дзетта-потенциала.

4. Более ценную информацию, характеризующую удельную эффективность синтезированных конъюгатов в ИФА, вероятно, можно было получить при использовании зависимости оптической плотности не от массовой концентрации конъюгатов (мкг/мл), а от количественной концентрации (штуки/мл), имеющиеся экспериментально полученные характеристики систем позволяют осуществить предложенное нормирование результатов.

Необходимо подчеркнуть, что сделанные замечания носят дискуссионный характер и не могут изменить общую высокую оценку работы.

Содержание диссертации в полной мере соответствует паспорту специальности 1.5.6 Биотехнология по следующим пунктам: п. 3 и п. 8.

Диссертационная работа Стойновой Анастасии Михайловны на тему: «Влияние наночастиц различной природы на иммунологические свойства аутоантител при создании диагностических конъюгатов «наноноситель-биолиганд», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук, является законченной научно-квалификационной работой в области регуляции биологической активности моноклональных антител тиреоглобулина, с применением наноносителей различной природы и концентрации при разработке высокочувствительных диагностических тест-систем для выявления тиреоглобулина щитовидной железы.

Диссертационная работа, представленная к защите, удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления от 11.09.2021), а автор диссертации Стойнова Анастасия Михайловна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент

доктор химических наук (02.00.11 Коллоидная химия и 02.00.06 Высокомолекулярные соединения), доцент кафедры коллоидной химии

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

Левачев Сергей Михайлович



«03» июня 2022 г.

119991, ГСП-1, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1  
Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

E-mail: semmm77@mail.ru

Подпись С.М. Левачева заверяю  
Декан химического факультета МГУ  
имени М.В.Ломоносова  
член-корр. РАН, профессор

