

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
24.1.029.01 (Д002.034.01) НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО
ПРИБОРОСТРОЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИАП РАН),
Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК
аттестационное дело № _____

решение Диссертационного совета от «10» марта 2023 г. № 4

о присуждении Белову Дмитрию Анатольевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата технических наук.

Диссертация «Новые технические решения и методики обработки сигналов детектирующих амплификаторов нуклеиновых кислот» по специальности 1.3.2 (01.04.01) – Приборы и методы экспериментальной физики принята к защите 23.12.2022, протокол № 19/2, Диссертационным советом 24.1.029.01 (Д002.034.01) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН), 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д.31-33, лит.А, приказ от 02.11.2012 № 714/нк.

Соискатель: Белов Дмитрий Анатольевич, 1990 года рождения, в 2015 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петербургский государственный университет путей сообщения Императора Александра I» (далее - ФГБОУ ВО ПГУПС) по специальности «Промышленная теплоэнергетика» с присуждением квалификации «Инженер». Диплом с отличием № 107814 0000804 выдан 07.07.2015.

Белов Дмитрий Анатольевич обучался в аспирантуре с 01.09.2015 по 31.08.2019 и освоил программу подготовки научно-педагогических кадров по направлению подготовки 13.06.01 «Электро- и теплотехника» с присвоением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь», протокол № 1 от 06.06.2019. Диплом № 107814 0000116 выдан 10.06.2019.

В настоящее время Белов Дмитрий Анатольевич работает младшим научным сотрудником в лаборатории № 235 ИАП РАН.

Диссертация выполнена в ИАП РАН.

Научный руководитель: Киселев Игорь Георгиевич, доктор технических наук, профессор кафедры «Электротехника и теплоэнергетика» ФГБОУ ВО ПГУПС, Заслуженный работник Высшей школы Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

1) Чернышев Андрей Владимирович - доктор технических наук, профессор ФГБОУВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» представил на диссертацию и автореферат **положительный отзыв**, в котором содержатся следующие замечания:

- 1 Выводы к главе 1 не обоснованы. Дается много описательного материала, но нет четкого количественного обоснования необходимости повышения производительности амплификаторов ДНК.
- 2 При постановке Задач, решаемых в диссертации, нет обзора и анализа математических моделей рабочих процессов, методов расчета и экспериментальных стендов и исследований.
- 3 Раздел 1.3 Методы измерений тепловых параметров – много ценного материала, но нет количественной оценки погрешности и динамических характеристик средств измерений.
- 4 Глава 3. Раздел 3.1 Математическое моделирование рабочих процессов. Нет строгого описания сформулированной математической модели, нет допущений. Решается нестационарная задача, а где начальные и конечные условия? Из расчетной области исключены элементы Пельтье, пробирки (описка), и окружающая среда. Приведены исходные зависимости, но представлены расчетные. Нет расчета (не представлены результаты) теплового поля в реакционной смеси в процессе нагрева/ охлаждения.
- 5 В работе не описано внедрение результатов работы, нет формального акта внедрения.

2) Давыдов Вадим Владимирович - доктор физико-математических наук, профессор ФГАОУВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Института физики, нанотехнологий и телекоммуникации представил на диссертацию и автореферат **положительный отзыв**, в котором содержатся следующие замечания:

- 1 В Главе 2 автором предложено использовать воду в качестве теплоносителя в термогидравлической системе, при этом критерии выбора теплоносителя не приводятся.
- 2 В Главе 4 не выполнено сравнение предложенных методик обработки сигналов плавления с известными методиками, которые ранее были рассмотрены в диссертации.
- 3 На Рисунке 3.14 необходимо было обозначить номера циклов, приводящихся в Таблице 3.4
- 4 В Главе 2 автор заявляет о регистрации трех патентов на изобретения и одной программы для ЭВМ, однако не приводит их в списке опубликованных работ ни в диссертации, ни в автореферате.

- 5 Не приводятся результаты экспериментов с применением корректирующей системы, предложенной в Разделе 2.1.2.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства» (ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России), Москва, в своем положительном заключении, утвержденном Лагарьковой Марией Андреевной, член-корр. РАН, доктором биологических наук, генеральным директором, подписанном Башкировым Павлом Викторовичем, кандидатом физико-математических наук, и. о. заведующего лабораторией электрофизиологии и Басмановым Дмитрием Викторовичем, руководителем Центра технологий и микрофабрикации, указала, что диссертация Белова Д.А. соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 (01.04.01), и отметила следующие замечания:

1. В Таблице 4.5 приводятся результаты применения разработанных методик обработки сигналов плавления ДНК. При этом значения СКО определения параметра T_m не превышают 0,1 град. Остается непонятным, почему в результате применения программного обеспечения на основе одной из методик, значение СКО составляет 0,2 град. (Таблица 4.6).
2. Не обоснован выбор значений удельной тепловой мощности элементов Пельтье и скорости протекания воды, приведенных на стр. 74 и используемых при реализации численных методов исследования тепловых процессов амплификатора.

Соискатель имеет **32 (тридцать две)** опубликованные работы, из них по теме диссертации: **14 (четырнадцать)** опубликованных работ в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК РФ и Международные библиометрические базы Scopus и/или Web of Science, **3 (три)** патента на изобретение РФ и **1 (одно)** свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

К наиболее значительным работам, отражающим основное содержание диссертации, относятся:

1 **Белов Д.А., Корнева Н.А., Альдекеева А.С., Белов Ю.В., Киселев И.Г.** Повышение разрешающей способности генетических анализаторов при определении температуры плавления ДНК // Научное приборостроение. 2016. Т. 26, № 2. С. 17-22.

2 **Белов Д.А., Белов Ю.В., Манойлов В.В.** Методика обработки данных при плавлении продуктов полимеразной цепной реакции в реальном времени // Научное приборостроение. 2016. Т. 26, № 3. С. 10-14.

3 **Белов Д.А., Белов Ю.В., Широкоград А.Л.** Разработка экспериментальной

версии программного обеспечения на основе новой методики определения температуры плавления ДНК // Научное приборостроение. 2018. Т. 29, № 2. С. 11-19.

4 Белов Д.А., Белов Ю.В., Киселев И.Г., Водопьянова Ю.О. Совершенствование теплового блока анализатора нуклеиновых кислот // Бюллетень результатов научных исследований. 2018. № 4. С. 5-11.

5 Курочкин В.Е., Белов Д.А., Белов Ю.В., Зубик А.Н. Определение модельных констант при вычислении температуры плавления ДНК // Научное приборостроение. 2020. Т. 30, № 2. С. 10–16.

6 Belov D.A., Bulyanitsa A.L., Korneva N.A., Aldekeeva A.S., Belov Yu.V. Analytical determination of DNA melting characteristic parameters using the optimal degree polynomial regression model // J. Phys.: Conf. Ser. 2021. 2103 012057.

7 Kiselev I.G., Belov D.A. Physical processes simulation in a precision device for liquid samples thermal cycling // J. Phys.: Conf. Ser. 2021. 2131 022061.

8 Курочкин В.Е., Белов Д.А., Белов Ю.В., Зубик А.Н. Методика определения характерных параметров при плавлении ДНК в анализаторах нуклеиновых кислот // Медицинская техника. – 2021. – № 5. – С. 23-25. (Kurochkin V.E., Belov D.A., Belov Yu.V., Zubik A.N. A method for determining characteristic DNA melting parameters in nucleic acid analyzer // Biomedical Engineering. 2022. Vol. 55, № 5. P. 333–336).

9 Белов Д.А., Белов Ю.В., Коновалов С.В., Алексеев Я.И. Устройство для одновременного контроля в реальном масштабе времени множества амплификаций нуклеиновой кислоты. Патент на изобретение РФ № 2640186. Дата регистрации в Государственном реестре РФ: 26.12.2017. Патентообладатель – ИАП РАН.

10 Белов Д.А., Белов Ю.В. Устройство для одновременного контроля в реальном масштабе времени множества амплификаций нуклеиновой кислоты. Патент на изобретение РФ № 2691763. Дата регистрации в Государственном реестре РФ 18.06.2019. Патентообладатель - ИАП РАН.

На автореферат диссертации поступили следующие отзывы:

1) От Аксенова Алексея Юрьевича, кандидата технических наук, старшего научного сотрудника лаборатории автоматизации научных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук».

Замечания:

1. В научной новизне указано сокращение времени анализа до 30%, а в остальных разделах только до 25%.

2. В разделе 2.2 автор приводит результаты сравнения вариантов реализации гидравлической системы, однако, не описывает критерии сравнения.

3. При описании экспериментального исследования выравнивания температурного поля есть указание на особую роль набора резисторов сопротивлением 15 Ом, но не приведена электрическая принципиальная схема испытательного стенда.

4. В таблице 2 не приведены результаты применения методики РФ, приведенной в таблице 2, для определения величин T_{m2} и DT_2 .

2) От Аляпкиной Юлии Сергеевны, кандидата биологических наук, руководителя департамента разработки и внедрения ПЦР-наборов ООО «НПФ Синтол» и Кузубова Алексея Владимировича, Генерального директора ООО «НПФ Синтол».

Замечаний нет.

3) От Калько Галины Валентиновны, кандидата биологических наук, заведующей исследовательской лабораторией Федерального бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства».

Замечаний нет.

4) От Имянитова Евгения Наумовича, доктора медицинских наук, чл.-корр. РАН, заведующего научным отделом биологии опухолевого роста ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Замечания:

1. Приведено описание корректирующей системы, направленной на компенсацию неравномерности температурного поля держателя пробирок путем формирования температурного режима элементов Пельтье, однако, не приведено, как определяется величина этих сигналов.
2. Остается непонятным, является ли формула 6 известной из литературных источников или полученной автором впервые.

5) От Никулина Артема Валерьевича, кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника, руководителя центра коллективного пользования «Биотехнология» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ВНИИСБ).

Замечаний нет.

6) От Сулина Александра Борисовича, доктора технических наук, ординарного профессора федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-

Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» (ИТМО).

Замечания:

1. В списке работ, опубликованных автором по теме диссертации, отсутствуют зарегистрированные им патенты на изобретения.
2. В разделе 3.5 был определен показатель эффективности по значениям температур плавления образцов, находящихся в одном ряду держателя пробирок. При этом непонятно, как учитывались температуры плавления образцов с остальных трех рядов держателя.
3. В автореферате не поясняется, с чем связана неравномерность температурного поля держателя пробирок.

Все отзывы на автореферат диссертации положительные.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их большим опытом работы в областях физики, моделирования процессов теплопереноса, цифровой обработки сигналов, приборостроения, конструирования и разработки прецизионных термоциклирующих устройств, что подтверждается публикациями, в которых рассматриваются вопросы, связанные с тематикой диссертационного исследования соискателя.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **предложены** четыре варианта реализации термогидравлической системы, обеспечивающие: а) повышение производительности амплификатора при проведении анализов методом ПЦР-РВ за счет сокращения длительности анализа до 25 %; б) уменьшение разброса температур по лункам держателя пробирок при термостатировании проб до 5 раз;

- **предложена** математическая модель теплопереноса в тепловом блоке детектирующего амплификатора с термогидравлической системой в форме дифференциального уравнения в частных производных и **выполнен** расчет динамики тепловых процессов численными методами, сведенный к решению нестационарной задачи теплопроводности с эквивалентным коэффициентом теплопроводности жидкости λ_{eq} и переменным коэффициентом теплоотдачи α_c между поверхностью каналов держателя пробирок и протекающей при различных скоростях и температурах жидкости;

- **разработана** конструкция гидрораспределителя термогидравлической системы, позволяющая выровнять гидравлические сопротивления в каналах держателя пробирок, упростить конструкцию и уменьшить габариты термогидравлической системы;

- **разработана** корректирующая система, которая путем компенсации неоднородности температурного поля держателя пробирок амплификатора, позволяет реализовать анализ методом ПЦР-РВ с высокой и сопоставимой во всех пробирках эффективностью амплификации, а также обнаружить различия температур плавления (0,1-0,3 К) при анализе методом плавления ДНК;

- **предложены** методики обработки сигналов плавления ДНК, основанные на аппроксимации графиков плавления непрерывными функциями, а именно, усовершенствованными сигмоидальной, производной сигмоидальной, Гаусса и полиномиальной функцией со степенью, оптимальной по модифицированному критерию Акаике, и обеспечивающие достижение критериев высокого разрешения и сокращение времени анализа до 6 раз при обработке сигналов, полученных при реализации метода плавления на детектирующих амплификаторах АНК-32, АНК-48 и экспериментальном образце АНК-96;

- **выполнено** сравнение результатов применения разработанных методик обработки сигналов плавления ДНК на экспериментальных данных и **выявлены** преимущества методики, основанной на использовании полиномиальной функции со степенью, оптимальной по модифицированному критерию Акаике;

- **создана** экспериментальная версия программного обеспечения ANK_Melting для обработки сигналов, полученных при реализации метода плавления на амплификаторах АНК-32, АНК-48 и экспериментальном образце АНК-96;

- **выполнены** оценки систематической и случайной составляющих погрешности определения температуры плавления T_m 96 проб ДНК на экспериментальном образце амплификатора АНК-96, и **показано**, что СКО для систематической составляющей не превысило 0,39 К, а для случайной – 0,05 К.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что применительно к проблематике диссертации эффективно, с получением обладающих новизной результатов:

- **впервые выполнена** оценка влияния температуры и скорости протекания жидкости в термогидравлической системе на изменение скорости охлаждения держателя пробирок и анализируемых проб, а также компенсацию неравномерности их температур;

- **разработан** способ компенсации неоднородности температурного поля элементов амплификатора, основанный на корректировке сигналов управления температурным режимом элементов Пельтье и формировании поправок температур проб при повторных анализах по выявленным различиям температур плавления образцов в массиве пробирок;

- **предложены** методики обработки сигналов плавления, позволяющие определять температуру плавления ДНК с погрешностью, не превышающей 0,1 К, при шаге дискретизации сигнала более 0,2 К.

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

они были использованы при разработке, в том числе, детектирующего амплификатора нуклеиновых кислот в рамках реализации ПНИЭР «Разработка высокопроизводительного анализатора с многоканальным детектированием для молекулярно-генетических исследований» (руководитель - В.Е. Курочкин) и НИР «Новые подходы к разработке аналитических систем на основе генетических, физико-химических и иммунных методов исследования» (руководитель - В.Е. Курочкин). Помимо этого, полученные в диссертации результаты могут быть использованы в организациях, разрабатывающих оборудование для реализации методов ПЦР-РВ и плавления ДНК, таких как ООО "ДНК-технология" (Москва), ООО «ЛЮМЭКС-АХК» (Санкт-Петербург), ФГУП «Экспериментальный завод научного приборостроения со специальным конструкторским бюро Российской академии наук» (г. Черноголовка), МГТУ им. Н. Э. Баумана (Москва), АО «Научные приборы» (Санкт-Петербург) и др., и в организациях, реализующих и совершенствующих метод плавления ДНК высокого разрешения, таких как Институт математических проблем биологии (г. Пущино), ИПМ им. М.В. Келдыша РАН (Москва), ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта" (Санкт-Петербург), ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России (Санкт-Петербург), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва), ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск) и др.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что научные положения, выводы и результаты, содержащиеся в диссертации, подтверждаются использованием общеизвестных, апробированных и обоснованных физических методов, комплексным характером выполненных экспериментов и исследований численными методами с использованием лицензионных программных пакетов, а также воспроизводимостью полученных экспериментальных данных. Достоверность экспериментальных данных обеспечена использованием метрологически поверенного оборудования. Результаты эксперимента согласуются с теоретическими оценками и результатами моделирования.

Основные результаты докладывались и обсуждались на следующих конференциях: Первая российская конференция «Физика – наукам о жизни», Санкт-Петербург, ФТИ им. Иоффе, 2016 г.; научная конференция с международным участием «Неделя науки СПбПУ», Санкт-Петербург, ФГАОУ ВО СПбПУ, 19-24 ноября 2018 г.; международная конференция «Физика. СПб», ФТИ им. Иоффе, 22-24 октября 2019 г.; международная научная конференция «FarEastCon», Владивосток, ДВФУ, 2020 г.; шестой междисциплинарный научный форум с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии», Москва, 2020 г.; VIII Международная молодежная научная конференция «Физика. Технологии. Инновации. ФТИ-2021», Екатеринбург, 17-21

мая 2021 г.; Международная конференция «Физика.СПб», Санкт-Петербург, ФТИ им. А. Ф. Иоффе, 18–22 октября 2021 г.

Личный вклад соискателя заключается в следующем.

- Разработка новых технических решений, а именно, термогидравлической системы, гидрораспределителя и корректирующей системы.
- Формулирование математической модели процессов теплопереноса, протекающих в элементах усилителя с термогидравлической системой.
- Разработка и испытание экспериментального стенда усилителя с термогидравлической системой.
- Организация и проведение численных и экспериментальных исследований, обработка и анализ их результатов.
- Разработка методик обработки данных и реализации их в программной среде MATLAB.
- Подготовка научных публикаций и заявок на изобретения по тематике исследований.
- Представление результатов работы на конференциях.
- Оформление отчетов по темам НИР.

На заседании 10 марта 2023 года Диссертационный совет принял решение присудить Белову Дмитрию Анатольевичу ученую степень кандидата технических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 14 докторов наук, участвовавших в заседании, из 21 человека входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 14, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
Диссертационного совета
д.т.н., профессор

В.Е. Курочкин

Ученый секретарь
Диссертационного совета
д.ф.-м.н.

А.И. Буляница

Дата оформления заключения
10 марта 2023 г.
М.П.

