

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Петрова А.И. «Исследование и практическая реализация программно-аппаратных средств проведения полимеразной цепной реакции с наблюдением в реальном времени», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 01.04.01 — «Приборы и методы экспериментальной физики».

Диссертация посвящена исследованию и практической реализации программно-аппаратных средств проведения полимеразной цепной реакции с наблюдением в реальном времени. Относительно малое время, требуемое для анализа, высокая чувствительность и специфичность метода, хорошие метрологические характеристики привлекли к нему большое внимание аналитиков в научных и производственных лабораториях самых разных отраслей, в частности, в биологии и биотехнологии, медицине, пищевой промышленности, экологии и др. Поэтому вопросы дальнейшего совершенствования программно-аппаратных средств для повышения характеристик аналитических измерений, использующих полимеразную цепную реакцию, рассматриваемые и решаемые в представленной диссертации, безусловно своевременны и актуальны.

Обоснованность и новизна основных результатов диссертации.

Из основных результатов работы, прежде всего, следует отметить системный подход, примененный автором для достижения поставленной цели - развитию научно-практических основ создания современных программных и аппаратных средств проведения полимеразной цепной реакции, к тому же в реальном времени (ПРЦ-РВ). При решении стоящей перед автором проблемы был получен ряд новых научных результатов.

Здесь следует отметить разработку:

- оптимального в смысле точности и достоверности алгоритма обработки сигнала флуоресценции ПЦР;
- классификатора кинетических кривых с введением критерия наличия роста и признака аномальности, а также обоснование выбора цунзурированной сигмоидной функции для аппроксимации этих кривых;
- методики выбора параметров тепловых характеристик амплификатора на элементах Пельтье, обеспечивающих работу блока в реальном времени.

Достоверность и обоснованность полученных результатов, выводов и рекомендаций диссертационной работы подтверждается корректным применением соответствующего математического аппарата, результатами обсуждений работы на конференциях различного уровня (в том числе и международных), а также результатами экспериментального исследования и внедрения работы.

Научная и практическая ценность результатов диссертационной работы.

Научная ценность результатов работы заключается в разработке комплексного аппаратно-программного подхода по повышению эффективности ПЦР-РВ. Так, разработанные в работе алгоритмы обработки сигнала флуоресценции ПЦР при многокомпонентных измерениях позволили практически полностью компенсировать перекрестное влияние каналов для каждого образца. Обоснован выбор соответствующих параметров блока амплификации, пороговых значений активной области кинетических кривых и модельной функции для их аппроксимации. Все это позволило обеспечить возможность проведения аналитических исследований на аппаратуре, реализующей эти методы в реальном времени и с высокими характеристиками.

Практическая значимость работы определяется тем, что её результаты применимы для совершенствования как существующих программно-аппаратных комплексов, так и при создании новых.

Результаты работы использованы при разработке и внедрении в серийное производство приборов серии АНК (АНК-16, АНК-32, АНК-48, АНК-64, АНК-96). Серийный выпуск составил более 300 штук.

Общая характеристика работы.

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, списка литературы. Работа изложена на 112 страницах текста, содержит 41 рисунок, 12 таблиц, список литературы с общим числом ссылок 68.

Во введении обосновывается актуальность темы, приведена цель и задачи исследования, указана научная новизна и практическая ценность, сформулированы положения, выносимые на защиту, отмечен личный вклад автора, важно отметить представление списка научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ, в которых были использованы полученные результаты.

Первая глава посвящена анализу современного состояния аппаратно-программных комплексов ПЦР-РВ. Приведена общая схема, принцип действия и состав программного обеспечения комплексов. Сформулированы цель и задачи диссертационного исследования.

Вторая глава посвящена исследованию тепловых режимов амплификации при проведении ПЦР на приборах серии АНК, но примененная методика может быть распространена и на другие приборы. Оценены время установления температуры в пробирке, разность температуры планшета и реакционной смеси в зависимости от скорости нагрева/охлаждения и даны рекомендации по выбору параметров блока амплификации, обеспечивающих существенное сокращение времени анализа

при сохранении требуемой точности поддержания температуры. Это соответствует первому положению, выносимому на защиту.

Третья глава посвящена синтезу алгоритма первичной обработки данных, оптимального в точки зрения подавления шума и при минимальном искажении сигнала.

Четвертая глава посвящена реализации алгоритмов управления на основе создания проблемно ориентированного языка описания эксперимента и создания автоматного языка управления прибором. Разработан конечный автомат-исполнитель, реализующий алгоритмы работы прибора, позволяющий проводить модернизацию ПО приборов ПЦР-РВ без модернизации встроенного ПО, а используя только соответствующую модификацию ПО на компьютере комплекса. Это выносится на защиту (п.4).

Пятая глава посвящена исследованию алгоритмов обработки. Проведено исследование и оценено влияние фильтрации на погрешность расчета пороговых циклов (выносимое на защиту положение 2). Предложены критерии классификации кинетических кривых на основе анализа первой производной и исследованы особенности их аппроксимации модельными функциями (выносимое на защиту положение 3). Исследованы особенности многокомпонентного анализа ПЦР-РВ. В результате разработан базовый набор алгоритмов математической обработки кинетических кривых, который был использован при реализации программного обеспечения для приборов серии АНК, выпускаемых ИАП РАН.

Шестая глава посвящена описанию внедрения результатов работы.

В заключении приведены перспективы развития данного направления и сформулированы результаты и выводы диссертационного исследования.

В целом диссертация написана хорошим языком, содержит необходимое количество рисунков и таблиц, иллюстрирующих полученные данные,

Замечания по работе

1. Не ясно, почему рассмотрение процедуры фильтрации сигналов флуоресценции проведено в разных главах. В результате в третьей главе выбран цифровой фильтр низких частот, а в 5 главе в параграфе 5.1 наилучшим оказался полиномиальный фильтр Савицкого-Голея?

2. При сравнительном анализе фильтров не указана степень полинома для фильтра Савицкого-Голея. Медианный фильтр по 3-м точкам явно недостаточен для сравнения и всегда будет проигрывать остальным.

3. При описании влияния фильтрации на погрешности расчета пороговых циклов основное внимание уделено простым фильтрам на основе скользящего среднего, остальные фильтры практически не упоминаются.

4. При выборе модельной функции для аппроксимации кинетических кривых ПЦР-РВ нечего не говорится о выборе начальных

значений параметров аппроксимации и никак не обосновывается единственность найденного решения.

5. Из материала раздела 5.5 осталось не ясным как выбираются компенсационные коэффициенты, устраняющие влияние соседних каналов при многокомпонентных измерениях.

6. В работе используются жаргонные или не объясненные термины: "детекция"(повсеместно), "постоянная времени пробирки" (стр43 диссертации и стр8 автореферата), "стандартное отклонение пороговых циклов" (в п.5.1) и т.д.

Выводы по работе

В целом замечания не затрагивают существа выносимых на защиту положений и не оказывают влияния на общую положительную оценку работы. Диссертация является целостным, завершенным, научно значимым, самостоятельным исследованием, содержащим, как оригинальные результаты, так и развитые известные прикладные методы и подходы.


В работе проведено математическое моделирование физических явлений и процессов, а также выполнена разработка устройств, предназначенных для проведения экспериментальных исследований, что соответствует формуле специальности 01.04.01 — Приборы и методы экспериментальной физики. Представленные на защиту результаты характеризуются существенной новизной, практической значимостью и на настоящий момент уже внедрены в промышленность.

Автореферат и публикации полностью отражают содержание работы.

Диссертация полностью отвечает п.9. Положения ВАК РФ «О присуждении ученых степеней», (утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а ее автор, Петров Александр Иванович заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата технических наук по специальности 01.04.01 «Приборы и методы экспериментальной физики».

Официальный оппонент ,

зав. каф. Автоматизации процессов
химической промышленности ФБОУ ВО
«Санкт-Петербургский государственный
технологический институт (технический
университет)», д.т.н., профессор
Телефоны: (812) 494-92-53
E-mail: aphp@technolog.edu.ru

 /Леон Абрамович Русинов/

