

## О Т З Ы В

официального оппонента диссертационной работы

Петрова Дмитрия Григорьевича

«Разработка экспериментальной установки для создания методик автоматизированного выделения нуклеиновых кислот на твердой фазе», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики

На оппонирование представлены: диссертация общим объемом 148 страниц, включающая введение, четыре главы, заключение, список литературы, содержащий 147 источника и автореферат диссертации на 16 страницах.

**Актуальность работы** обусловлена широчайшим внедрением методов молекулярного анализа нуклеиновых кислот (НК), к которым относятся полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в фундаментальных научных исследованиях и в прикладных исследованиях в медицине, сельском хозяйстве и ветеринарии. Особое место ПЦР занимает в методах идентификации личности, применяемых силовыми структурами. Одним из важнейших этапов этих исследований является подготовка проб для молекулярно-генетического анализа. Качество подготовки проб во многом определяет конечный результат исследований. Процесс выделения и очистки НК включает в себя несколько стадий: сорбцию НК на сорбенте, удаление загрязняющих компонентов, сушку сорбента от остатков промывочного реагента и перенос НК в раствор для анализа. Многообразие природы и состава анализируемых проб предполагает необходимость индивидуального подбора условий проведения каждой стадии пробоподготовки при одновременном исключении ошибок субъективного характера. По этой причине разработка автоматизированной программируемой установки, позволяющей экспериментально моделировать,

оценивать и изучать каждую из стадий выделения и очистки НК, оценивать их совместимость и регулировать качество и количество выделяемого генетического материала при сокращении влияния «человеческого» фактора является актуальной задачей.

**Научная новизна** изложенная в диссертации Д. Г. Петрова определяется тем, что в ней впервые проведено исследование и показано влияние изменения длительности отдельных стадий выделения и очистки НК в автоматическом режиме на результат всей пробоподготовки. В работе, при непосредственном участии соискателя, впервые создана экспериментальная установка, позволяющая проводить выделение НК с использованием ультразвука (частота 2,65 МГц), с эффективностью выделения выше 85% без применения температурного воздействия, а также предложен способ двадцатикратного концентрирования НК в ходе проточного выделения на магнитном сорбенте под воздействием ультразвука.

**Значимость результатов для науки и практики.** Результаты исследований представленные в диссертационной работе Д.Г. Петрова имеют высокое значение для развития современных методов исследования как в молекулярной биологии и медицине, так и для решения широкого класса прикладных задач. Созданная экспериментальная установка позволяет в автоматическом режиме определять и изменять параметры выделения НК на картридже такие, как скорость дозирования, температура, интенсивность ультразвукового воздействия, длительность стадий выделения НК. Это позволяет создавать методики автоматизированного выделения НК из жидких проб на картриджах с выходом НК более 90%. В работе разработан новый способ проточного выделения НК с использованием ультразвука из проб объёмом 10 мл, который позволяет достичь двадцатикратного увеличения степени концентрирования НК в элюате по сравнению с непроточным способом выделения НК из такой же пробы.

**Обоснованность и достоверность полученных результатов.** Работа Д.Г. Петрова выполнена на высоком техническом и методическом уровне. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Сформулированные Д.Г. Петровым научные положения и выводы обоснованы и полностью соответствуют полученным результатам и поставленным задачам исследования. Достоверность результатов теоретических исследований подтверждается успешным использованием полученных результатов в разработках ИАП РАН. При работе над диссертацией, соискатель использовал современные методы экспериментальных исследований.

**Личный вклад автора.** Результаты, включенные в диссертационную работу, получены лично диссертантом Д.Г. Петровым или под его непосредственным руководством. Автор лично планировал, проводил экспериментальные и теоретические исследования, анализировал и обобщал результаты исследований.

**Апробация работы.** Материалы диссертации опубликованы в трех статьях в журнале «Научное приборостроение». Основные результаты исследования доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях. Результаты экспериментальных исследований, полученные в диссертации, легли в основу создания методики выделения НК с помощью одноразовых картриджей в Комплексе КВНК.

**Характеристика работы.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка использованных источников. Работа содержит 148 страниц машинописного текста, 12 таблиц и 35 рисунков. Список использованных источников включает 147 наименований.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследований.

Первая глава диссертации посвящена аналитическому обзору работ по различным методам и способам выделения НК, в том числе с применением коммерческих автоматизированных приборов и систем. Сформулированы цель и решаемые задачи.

Во второй главе сформулированы основные требования к создаваемой установке и описан путь реализации этих требований, включая экспериментальную оценку материалов картриджа для выделения нуклеиновых кислот.

В третьей главе приведены результаты экспериментальных исследований по определению количества жидких реагентов и условий для их качественного перемешивания, времени инкубирования на различных стадиях выделения, обеспечивающие выделение НК в автоматическом режиме.

В четвертой главе представлен Комплекс для выделения нуклеиновых кислот (Комплекс КВНК), обеспечивающий выделение НК из жидких проб (до 4 образцов) с помощью одноразовых картриджей, содержащих необходимые реагенты.

Диссертация Петрова Д.Г. прошла апробацию: результаты доложены и обсуждены на международных и российских конференциях. Результаты экспериментальных исследований легли в основу создания методики выделения НК с помощью одноразовых картриджей в Комплексе КВНК.

Автореферат в достаточной степени отражает содержание диссертации.

Таким образом, в диссертационной работе Петрова Д. Г. поставленная цель достигнута - разработана установка для создания и модификации методик автоматизированного выделения нуклеиновых кислот.

**Замечания и вопросы.** При изучении диссертации возникли вопросы.

1. В названия диссертации указано, что работа посвящена разработке экспериментальной установки для создания методик автоматизированного выделения нуклеиновых кислот на твердой фазе. В чем заключается суть выделения нуклеиновых кислот на твердой фазе не уточняется, и ответа на этот вопрос в работе я не нашел.
2. Работа по своей сути имеет очень важное прикладное значение и ее результаты использованы в разработках ИАП РАН, но в работе это не отражено. Не конкретизировано, что внедрено и нет формального акта внедрения результатов исследования.

3. В работе встречаются ошибки типа: «вязкости лизирующего реагента  $\eta = 0,9$  спуаз, плотности лизирующего реагента  $\rho = 0,92$  г/см» (стр.90). Размерность вязкости сПуаз – применяется в системе СГС! Размерность плотности указана с ошибкой. Далее подставляя эти значения в расчетную формулу, автор получает результат в миллиметрах. Встречаются выражения типа «... квадрат толщины пограничного слоя...» стр. 90. Или использование в одной формуле (7) на стр. 92 параметров в разных системах измерения (Си и СГС). Там же указывается – «это энергия на единицу площади ... 1,2 -3,0 Вт/см<sup>2</sup>). В ватах измеряется мощность.
4. Глава 3 посвящена проведению комплекса экспериментальных исследований. Но в главе отсутствуют сведения о методах и данных обработки результатов.
5. Не понятно решена ли задача: п5. «Создание протоколов автоматического выделения НК с использованием разработанной установки...» . В заключении этот результат не оговорен.

Надеюсь, что в процессе защиты, соискатель даст обоснованные ответы на поставленные вопросы и замечания.

Стоит отметить, что указанные замечания и вопросы не влияют на общую **положительную** оценку работы.

**Заключение.** Таким образом, диссертационная работа Д.Г. Петрова является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – создание основ для разработки нового поколения серийно выпускаемых приборов для анализа нуклеиновых кислот.

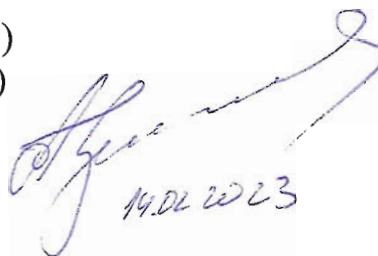
Тематика диссертационного исследования соответствует паспорту специальности 1.3.2 по пункту:

Разработка и создание лечебно-диагностических методик и аппаратурных комплексов для биомедицинских исследований.

Диссертация удовлетворяет требованиям п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 в действующей редакции), предъявляемым ВАК к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Петров Дмитрий Григорьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.3.2 – приборы и методы экспериментальной физики.

Официальный оппонент:

Доктор технических наук по специальности  
05.11.17 – приборы, системы и изделия медицинского назначения?  
профессор,  
Заведующий кафедрой  
«Вакуумная и компрессорная техника» (Э-5)  
ФГБОУ ВО МГТУ им. Н. Э. Баумана (НИУ)  
Чернышев Андрей Владимирович



14.02.2023

Почтовый адрес: 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, Телефон: +7 (499) 263-68-36  
Контакты официального оппонента:  
Моб. +7 9684359929, e-mail: chernyshev@bmstu.ru, av-chernyshev@yandex.ru

