

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

о диссертационной работе Подольской Екатерины Петровны

**«Разработка аналитической системы и методологии химического анализа в формате «лаборатория на мишени» на основе наноструктур, содержащих атомы металлов»,**  
представленной на соискание ученой степени доктора технических наук  
по специальностям: 1.3.2. – «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2 –  
«Аналитическая химия»

### **Актуальность темы исследования**

Проблема анализа структуры и функциональной трансформации биомакромолекул находится на стыке экспериментальной физики и аналитической химии. Разработка экспериментальных методов, позволяющих проводить высокопроизводительный скрининг продуктов метаболизма является необходимым этапом для решения актуальных задач протеомики, аддуктомики, метаболомики, молекулярной микробиологии и фармации. Отсутствие методов, сочетающих в себе точность измерений, чувствительность масс-спектрометрии и экспрессность, характерную для традиционных биохимических методов, является камнем преткновения при изучении биотрансформации потенциальных лекарственных субстанций, анализе метаболизма микроорганизмов, поиска модификаций белков в норме и при развитии патологических процессов в организме, анализе метаболизма жирных кислот. Поэтому работа Екатерины Петровны Подольской, посвящённая разработке и обоснованию концепции «лаборатории на мишени» на основе наноструктур, содержащих атомы металлов, является актуальной.

### **Научная новизна результатов диссертационного исследования**

В работе Е.П. Подольской предложено научное обоснование нового технического решения для создания устройства формата «лаборатория на мишени», необходимого для проведения высокопроизводительного скрининга биомакромолекул. Разработаны оригинальные методы функционализации поверхности мишени на основе метода электрораспыления, технологии Ленгмюра, доказана возможность использования нанодисперсных оксидов переходных металлов, синтезированных гель-золь методом, и монослоёв Ленгмюра на основе стеаратов металлов, в качестве металл-аффинных сорбентов; разработана оригинальная методика анализа свободных жирных кислот (с использованием ионов бария), показана возможность детекции аддуктов глобина с использованием металл-аффинной хроматографии в формате «лаборатория на мишени».

## **Практическая значимость диссертационного исследования**

Методики для специфической экстракции аддуктов глобина и анализа жирных кислот успешно применяются в ряде институтов ФМБА России и Минобрнауки России, о чём свидетельствуют утверждённые акты о внедрении. Разработанные методы могут быть использованы в фармацевтических компаниях и научно-исследовательских учреждениях при поиске и доклинических исследованиях новых фармацевтических препаратов, разработке методик идентификации метаболитов, диагностике интоксикаций.

## **Достоверность и обоснованность полученных результатов**

Диссертационная работа Подольской Екатерины Петровны является завершённым научным исследованием, направленным на решение актуальных задач современной экспериментальной физики и аналитической химии. Достоверность результатов обусловлена использованием адекватных поставленным задачам современных физических и химических методов исследования. Для всех разработанных методов проведены процедуры стандартизации и соответствующая статистическая обработка результатов, полученных при изучении свойств разрабатываемых покрытий; проведена оценка чувствительности и указаны ограничения разработанных методов анализа биомакромолекул и их компонентов. Полученные результаты отражены в 42 публикациях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и в двух патентах Российской Федерации.

## **Общая оценка структуры и содержания работы**

Екатерина Петровна Подольская в представленной работе обосновывает актуальность разработки концепции «лаборатории на мишени» для решения проблемы высокопроизводительного анализа биологически значимых макромолекул, их аддуктов и метаболитов. Е.П. Подольская обосновывает соответствие предложенного в работе технического решения, основанного на использовании наноструктур, содержащих атомы металлов, решению задачи создания универсальных многофункциональных покрытий для масс-спектрометрических мишеней.

Диссертационное исследование Е.П.Подольской построено по традиционной схеме; разделы обзора литературы (5 глав) логически выстроены – от описания существующих актуальных задач аналитической химии и физических основ применяемых в работе технологий до описания современного состояния методов на основе масс-спектрометрии и существующих реализаций формата «лаборатории на мишени». Обзор литературы убедительно показывает необходимость разработки комплексного подхода для решения существующих методических проблем, возникающих при высокопроизводительном анализе

биомолекул. В разделе «Материалы и методы» скрупулезно описываются все применённые в работе методы, использованные при создании многофункциональных покрытий для масс-спектрометрической мишени, изучении физико-химических свойств таких покрытий и применении разработанных покрытий для анализа биомакромолекул, полученных из различных биологических источников. В разделе результатов последовательно описываются разработка и исследование структур для функционализации поверхности масс-спектрометрических мишеней; приводятся результаты изучения физико-химических свойств и морфологии таких покрытий, описываются специфичность сорбции и селективные свойства разработанных подложек. Подробно описываются результаты применения разработанных методов для изучения белковых аддуктов, потенциальных метаболитов фармацевтических препаратов и свободных жирных кислот в биологических образцах. При описании примеров применения указываются ограничения разработанных методик, проводится статистических анализ и анализ воспроизводимости результатов. Для метода металл-аффинной экстракции аддуктов глобина приводится блок-схема анализа.

Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, списка литературы и 7 приложений. Общий объем диссертации составляет 411 страниц машинописного текста, включая 97 рисунков, 26 таблиц и список цитируемой литературы из 666 работ отечественных и зарубежных авторов. Текст диссертации написан хорошим языком, материал достаточно иллюстрирован. Работа выполнена на высоком методическом уровне и грамотно оформлена.

Основные результаты диссертации изложены в 42 печатных работах в научных журналах, рекомендованных ВАК, двух патентах, приводятся три утверждённых акта о внедрении.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы, выводы соответствуют поставленным задачам.

### **Использование результатов диссертационной работы в научной работе и учебном процессе**

Полученные в диссертационной работе результаты могут быть использованы в учебных курсах, проводимых в ФГБНУ «ИЭМ» и ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

## Спорные и дискуссионные положения работы

Принципиальных замечаний к работе и спорных положений не имеется. Однако в процессе чтения работы у оппонента возник ряд замечаний и вопросов.

### Замечания:

1. В тексте работы (более 400 страниц) имеется всего несколько опечаток. В нескольких разделах обзора литературы, касающихся изучению белкового метаболизма, не всегда приводятся наиболее точные и общеупотребительные термины.
2. При изучении формирования слоёв на подложке различные подложки изучались с использованием разного набора методов (для некоторых подложек не проводилась атомно-силовая микроскопия)
3. При анализе данных микроскопии проводится визуальное сопоставление изображений, отсутствует статистический анализ характеристик поверхностей
4. Интересный раздел работы, посвящённый изучению сорбции на монослоях стеарата бария, не нашёл отражения в заключении и выводах работы
5. Надписи на нескольких рисунках не переведены на русский язык.

### Вопросы:

1. В разделах, посвящённых изучению пептидных аддуктов, используются модельные пептиды – и характеристики мишени (способность к сорбции, чувствительность) определяются для этих модельных пептидов. Являются ли универсальными предложенные подходы – или при изучении других пептидов необходимо проводить все этапы описанного в работе алгоритма анализа?
2. Возможно ли создание специализированной «лаборатории на мишени» для масс-спектрометрического анализа свободных жирных кислот с преднанесёнными стандартами?

Указанные замечания не влияют на высокую положительную оценку работы, вопросы носят дискуссионный характер.

## Заключение

Диссертация Подольской Екатерины Петровны «Разработка аналитической системы и методологии химического анализа в формате «лаборатория на мишени» на основе наноструктур, содержащих атомы металлов», представленная к защите на соискание учёной степени доктора технических наук по специальностям 1.3.2 – «Приборы и методы

экспериментальной физики» и 1.4.2 – «Аналитическая химия», является самостоятельно выполненным научным квалификационным исследованием, посвященным разработке методического обеспечения химического анализа биомакромолекул и пробоподготовки в аналитической химии с использованием масс-спектрометрии. Разработан ряд новых комплексных методов пробоподготовки для проведения биомедицинских исследований, что позволило существенно увеличить точность, чувствительность и быстродействие измерений при решении широкого круга актуальных задач. Совокупность разработанных методов, входящих в концепцию «лаборатории на мишени» можно квалифицировать как техническое решение, внедрение которого вносит значительный вклад в решение проблемы анализа метаболизма биомакромолекул.

Полученные Подольской Е.П. результаты и использованные методы решения поставленных в работе задач соответствуют специальностям 1.3.2. "Приборы и методы экспериментальной физики" и 1.4.2. "Аналитическая химия". По актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертация Подольской Е.П. полностью удовлетворяет требованиям и критериям, предъявляемым к подобным работам и приведенным в п. 9 Положения ВАК «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции № 415 от 18.03.2023), а ее автор, Подольская Екатерина Петровна, заслуживает присуждения ученой степени доктора технических наук по специальностям 1.3.2. «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2. «Аналитическая химия».

Официальный оппонент,  
заведующий лабораторией биомедицинской  
и фармацевтической масс-спектрометрии  
ФГБНУ «ИЭМ»),  
доктор биологических наук

Егоров  
Владимир  
Валерьевич

« 7 » июня 2023 г.



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной  
медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»), Отдел молекулярной микробиологии

197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова,

Телефон: +7 (812) 2346868

Сайт организации: <http://www.iemspb.ru>

Адрес электронной почты: [sondyn@yandex.ru](mailto:sondyn@yandex.ru)