

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу КОЗИЦИНОЙ Алисы Николаевны

«Электрохимические сенсорные системы на основе органических и неорганических наноразмерных модификаторов для бесферментного определения клинически значимых соединений», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия

Тема диссертационной работы Козициной Алисы Николаевны, безусловно, актуальна. Эффективность медицинской помощи определяется правильностью и своевременностью постановки диагноза. Совершенствование инструментальных средств медицинской диагностики сегодня опирается на развитие концепции сенсоров и биосенсоров – портативных устройств, предназначенных для диагностики «у постели больного» («point-of-care»).

Среди существующих методов анализа подавляющее большинство занимают электрохимические устройства. Это определяется как чисто аналитическими, так и экономическими факторами. С аналитической точки зрения электрохимические методы обладают как наиболее низкими пределами обнаружения (сегодня визуализация отдельных молекул без микроскопии не является фантастикой) и наибольшими динамическими диапазонами, так и наименьшей чувствительностью к «эффектам матрицы», таким как окраска и мутность образца. Кроме того, электрохимическое оборудование является наиболее дешевым.

Диссертационная работа Козициной А.Н. посвящена разработке электрохимических бесферментных сенсорных систем на основе органических и неорганических наноразмерных модификаторов для бесферментного определения клинически значимых соединений. Несмотря на триумфальное шествие ферментативных персональных глюкозных тестов, ежегодный объем продаж которых оценивается в 15 миллиардов долларов США, природная нестабильность биокатализаторов диктует необходимость поиска бесферментных аналитических устройств. Здесь уместно сделать первое замечание. Диссертант, ставя задачу исключения ферментов из сенсорных устройств, тем не менее прибегает к использованию

антител (глава 3). Последние, имея подобно ферментам белковую природу, обладают еще более низкими показателями стабильности, в том числе и при хранении. Имея цель создания стабильных сенсорных систем, возможно, и здесь следовало бы прибегнуть к использованию полимеров с молекулярными отпечатками, как это сделано автором в следующей главе.

Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературных источников, приложений. Текст диссертации изложен на 343 страницах, содержит 98 рисунков, 13 схем, 67 таблиц, 3 приложения и 388 библиографических ссылок.

В первой главе представлен обзор литературы, по основным достижениям в области разработки биосенсоров для определения широкого круга аналитов. Приведен сравнительный анализ биосенсоров на основе ферментов, а также бесферментных иммуносенсоров/сенсоров. Пожалуй, обзор ферментативных биосенсоров представлен несколько чрезмерно, тем более, что такие аналитические устройства в диссертационной работе не рассматриваются. Кроме того, классификация ферментных электродов далеко не бесспорна.

Во второй главе приведены объекты, методы исследования и аппаратура, используемые материалы и реактивы.

Собственно экспериментальные результаты, составляющие основу диссертационной работы, представлены с третьей по пятую главу. Третья глава посвящена разработке алгоритмов нескольких вариантов бесферментного электрохимического иммуноанализа для определения содержания бактериальных агентов и антигена вируса кори. Представлены результаты исследования структуры, состава, размерных и морфологических параметров, седиментационной устойчивости наночастиц магнетита и нанокompозитных частиц на основе Fe_3O_4 с различным покрытием, влияния этих характеристик на окислительно-восстановительное поведение наноматериалов в протонных и апротонных средах, возможности применения в качестве сигналообразующей метки. Продемонстрированы результаты анализа реальных и модельных образцов на содержание бактериальных клеток с использованием разработанных способов и подтвержденные данными референсных

лабораторных методов. В главе использовано два варианта иммуноанализа: классический сэндвичевый на примере вируса кори и прямой с модификацией микроорганизмов наночастицами оксида железа. Последний является оригинальным, поэтому хотелось бы увидеть сравнительные характеристики методов, тем более что они представлены в одной главе.

Четвертая глава посвящена разработке алгоритмов и устройств различных вариантов бесферментных электрохимических способов количественного определения мочевины, креатинина, холестерина с использованием электрокатализаторов (соединения Ni (II), Co (II) органической и неорганической природы, наноксиды никеля (II), наночастицы серебра, золота, наносплавы, наночастицы типа ядро-оболочка). Приведенный сравнительный анализ позволил сделать выбор оптимальных каталитических систем, зарекомендовавших себя при анализе модельных образцов сыворотки крови. В этой главе автор уже полностью отказывается от использования афинных сорбентов белковой природы и переходит к использованию полимеров с молекулярными отпечатками для количественного извлечения (селективного «захвата») холестерина и креатинина. Работу несомненно украсил бы анализ реальных образцов сыворотки крови, однако автор, к сожалению, ограничился модельными растворами.

В пятой главе обсуждены вопросы токсического воздействия наноматериалов на живой организм. Показана возможность применения методов электроанализа к исследованию накопления наночастиц в клетках, взаимосвязи этого параметра с жизнеспособностью клеток, изменением цитокинного статуса клеток.

Полученные результаты характеризуют диссертационную работу Козициной А.Н. как соответствующую специальности 02.00.02 – Аналитическая химия. Многие разработки успешно апробированы. Получены акты испытаний (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», г. Новосибирск) подтверждающие возможность применения предложенных бесферментных электрохимических вариантов способов иммуноанализа и иммуносенсоров для количественного определения патогенных микроорганизмов. Результаты работы

использованы ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора при выполнении Федеральной целевой программы "Развитие инфраструктуры наноиндустрии в Российской Федерации на 2008 - 2010 годы" для разработки нормативно-методического обеспечения и средств контроля содержания наночастиц на объектах производственной сферы.

Содержание диссертации отражено в автореферате и соответствует специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Основные результаты по материалам диссертации опубликованы в 19 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 2 главах коллективных монографий, 6 патентах РФ и более чем в 100 тезисах докладов в материалах всероссийских и международных научных конференций. Получено 6 патентов РФ.

По содержанию работы в дополнении к представленным выше можно сделать также следующие замечания.

1. В разделах «структура и объем диссертации» как автореферата, так и диссертации в качестве независимой структурной единицы обозначены выводы, которые отсутствуют. Данный факт следует рассматривать как редакционную неточность, поскольку согласно современному ГОСТ выводы не являются обязательным разделом диссертации. Тем не менее выражаю сожаление по поводу отсутствия выводов, поскольку данную диссертационную работу они бы несомненно украсили.

2. В работе, особенно в литературном обзоре, содержится ряд неудачных выражений и неточностей. Так на стр. 30 «в качестве биорецептора активно применяют и наноматериалы». Биорецептор по определению не может быть неорганической природы. На стр. 35 «все электрохимические биосенсоры основаны на переносе заряда, происходящего на границе раздела электрод-раствор». А как же устройства на основе границы раздела несмешивающихся жидкостей, включая потенциометрические мембранные электроды? На стр. 43 «у первого класса биосенсоров ... аналитическим сигналом служит убыль концентрации аналита». Зачем тогда вообще городить огород с ферментом, если

концентрацию аналита можно определять напрямую? На стр. 45 имя соавтора Михаэлиса встречается дважды и каждый раз по-разному (правильно только второй вариант). Следует также отметить неточности в описании метода электрохимического импеданса.

Сделанные замечания, однако, не затрагивают существа диссертационной работы, которая является законченным исследованием, вносящим существенный вклад в современную электроаналитическую химию. Считаю, что диссертационная работа Козициной Алисы Николаевны по актуальности решаемой проблемы, объему проведенных исследований, уровню научной значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (в действующей редакции), утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, и может рассматриваться как завершенная научно-квалификационная работа, в которой содержится решение научной проблемы, имеющее существенное значение для развития электрохимических сенсорных систем. Таким образом, ее автор, Козицина Алиса Николаевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

26 апреля 2018 г.

Доктор химических наук, профессор,
Заведующий лабораторией электрохимических методов
кафедры аналитической химии, Химический факультет
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова
119991 Москва, Ленинские горы, МГУ, д.1, стр.3
Тел. 8-495-939-4605; email: aak@analyt.chem.msu.ru


Аркадий Аркадьевич Карякин

Подпись Карякина А.А. заверяю
Декан Химического факультета Московского
государственного университета имени М.В. Ломоносова,
чл.-корр. РАН, профессор


Степан Николаевич Калмыков

