

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Плешаковой Татьяны Олеговны на тему
«Высокочувствительная детекция белков на чипах к атомно-силовому микроскопу»,
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальности 03.01.04 – биохимия

Выявление и характеристика отдельных компонентов протеома является ключевой задачей биомедицинских исследований. Сверхчувствительная детекция белковых компонентов необходима для глубокого понимания биологических процессов, в том числе патологических, и может использоваться в диагностических целях. В настоящее время основу протеомного анализа составляют масс-спектрометрические, иммуноферментные, флуоресцентные и фотоспектрометрические методы. К ограничениям перечисленных подходов следует отнести невысокую эффективность обнаружения белков в концентрации 10^{-12} М и менее в растворе и биологических образцах. Данное обстоятельство определило первоочередное развитие нанотехнологических протеомных подходов, связанных с предварительным обогащением и концентрированием исследуемых молекул на специализированной сенсibilизированной поверхности планарного чипа, и формирующих направление «протеомика-на-чипе». К современным нанотехнологическим протеомным устройствам можно отнести атомно-силовой микроскоп (далее – АСМ), нанопроводной биосенсор, которые не имеют ограничений по концентрационной чувствительности и теоретически могут выявлять единичные белковые мишени. В связи с этим исследование Т.О. Плешаковой, посвященное созданию высокочувствительной системы детекции белков на основе АСМ-чипов, является крайне актуальным для биомедицинских исследований.

Построение работы логично, в ней исследованы ключевые проблемы анализа сложных белковых смесей, в том числе из биологических образцов. Автором проработана методология сенсibilизации поверхностей чипов для последующей атомно-силовой детекции, созданы эффективные процедуры многоступенчатой отмывки чипов от неспецифически сорбированных компонентов, предложена модель интерпретации результатов АСМ-измерений и оценки качества анализа. Т.О. Плешаковой удалось добиться аналитической чувствительности при детекции цитохрома b5 на уровне 10^{-17} М. Подобранный комбинация условий сенсibilизации поверхности плоского чипа и атомно-силовой детекции позволила получить концентрационную чувствительность менее 10^{-14} М для низкопредставленных белковых компонентов, различных по физико-химическим свойствам. Особое внимание было уделено оценке достоверности получаемых данных в зависимости от объема анализируемого образца и концентрации в нем целевых белков.

Теоретические положения и практические рекомендации, изложенные в диссертационной работе, полезны в решении проблемы концентрационной

чувствительности в протеомике без использования изотопных меток и процедур деплеции и фракционирования сложных белковых образцов.

Однако стоит отметить некоторые неточности, допущенные в оформлении автореферата, которые в целом являются незначительными и не умаляют значения полученных результатов. В частности, для микросомального рекомбинантного белка (тип А), выделенного на базе Института биоорганической химии НАН Белоруссии, не приведена степень очистки. Критерий оценки качества АСМ-анализа (α , %) информативнее представлять с учетом разброса данных (стандартное отклонение). В разделе «Выводы» аббревиатура ВОПГ усложняет понимание третьего вывода. Безусловно, данную работу украсил бы пример или прототип системы для диагностики *in vitro*, находящейся на этапе внедрения в клиническую лабораторную диагностику.

Вышеперечисленные замечания не умаляют достоинства работы, выполненной Т.О. Плешаковой на самом современном уровне. Совокупность полученных результатов можно квалифицировать как открытие нового направления в протеомике в виде детекции низкопредставленных белков в сложных смесях. Достоверность результатов сомнений не вызывает, они опубликованы в ведущих зарубежных и отечественных журналах, доложены на международных конференциях, а ключевые методики запатентованы.

На основании автореферата диссертации и вышеизложенного считаю, что работа Т.О. Плешаковой соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени доктора наук, а сам автор заслуживает присвоения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Грядунев Дмитрий Александрович
главный научный сотрудник ИМБ РАН,
заместитель директора ИМБ РАН по научной работе
д.б.н. по специальности 03.01.03 - молекулярная биология

02.09.2019

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

119991 Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, д.32. www.eimb.ru

Тел. +7 (499) 135-2311. E-mail: isinfo@eimb.ru, grad@biochip.ru

Подпись Д.А. Грядунева заверяю

Ученый секретарь ИМБ РАН, к.в.н.



А.А. Бочаров