УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной работе и цифровому развитию
ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»,
д.ф.-м.н., профессор
Алексей Александрович Короновский
«29» августа 2025 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» на диссертационную работу Новиковой Сагилы Аладдиновны на тему: «Иммунохроматографическая тест-система на основе многослойных халькогенидных квантовых точек, флуоресцирующих в ближней инфракрасной области», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 - Аналитическая химия

Диссертационная работа Новиковой С.А. посвящена одной из самых бурно развивающихся и молодых областей современной медицинской диагностики с использованием наноразмерных структур. Наночастицы, конъюгированные с белковыми молекулами широко применяются в биомедицине для диагностики, визуализации и терапии различных заболеваний. Одним из последних достижений диагностических и терапевтических технологий является использование квантовых точек (КТ) в качестве аналитических меток и флуоресцентных маркеров белков. Примером активного внедрения материалов на основе КТ может быть, в частности, создание высокочувствительных и селективных методов детектирования не только предельно низких концентраций сложных по составу и строению аналитов в биохимическом анализе, но и возможность определения единичных структур, что является особенно важным в биохимических и медицинских исследованиях. Несмотря на огромный интерес исследователей к возможности использования таких наночастиц на практике, многие вопросы их синтеза, модифицирования, стабилизации, физико-химических свойств, анализа хроматографическими методами, а также селективного связывания с биомолекулами и другими сложными органическими структурами для использования в иммуно-хроматографических методах остаются малоизученными. Отдельно хочется подчеркнуть перспективность мультиплексного анализа при использовании разноцветных КТ, что позволяет одновременно определять несколько аналитов и получать более полную информацию о биологических системах. В целом, исследование отражает современные тенденции в наномедицине и биоанализе, задавая вектор на развитие высокоточных,

быстрых и доступных диагностических платформ. Таким образом, ***актуальность и практическая значимость*** диссертации Новиковой С.А. не вызывают сомнений и связаны с совершенствованием методов стабилизации и модификации поверхности КТ, их конъюгации с антителами их практического применения разработкой иммунохроматографической тест-системы на основе многослойных халькогенидных квантовых точек, флуоресцирующих в ближней инфракрасной области, а также разработкой методик анализа как КТ и антител при их совместном присутствии, так и их конъюгатов доступными хроматографическими методами.

Научная новизна.

Разработан способы модификации поверхности гидрофобных КТ со структурой ядро/оболочка/оболочка/оболочка, флуоресцирующими в БлИК-области спектра (состава CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS) и получения их конъюгатов с антителами к gB вирусса болезни Ауески (ВБА), Изучено влияние модификации и конъюгации на свойства КТ. Предложен и апробирован метод ориентированного связывания антител с CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS-КТ, состоящий из двух стадий: ориентированное конъюгирование антител с поверхностью КТ за счет физической адсорбции с последующим ковалентным связыванием.

Разработаны методические подходы, позволяющие проводить анализ CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS-КТ и их конъюгатов с белками методами капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ), эксклюзионной и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Разработан иммунохроматографический способ диагностики болезни Ауески с использованием CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS-КТ в качестве меток антител, что позволяет снизить предел обнаружения.

По результатам проведенных исследований автором получено 7 патентов.

Объем и структура диссертации

Диссертация имеет классическую структуру, изложена на 135 стр., включает 59 рис. и 13 таблиц и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (глава 2) и обсуждения полученных результатов (главы 3-6), выводов, списка 258 литературных источников и 2 приложений.

В разделе «Введение» автор диссертации обосновывает актуальность темы диссертационного исследования, излагает его цели и задачи, научную новизну и практическую значимость; формулирует положения, выносимые на защиту; указывает личный вклад автора диссертации; а также приводит данные по апробации результатов исследования на различных конференциях.

В Главе 1 диссертации представлен обзор литературы, рассмотрены принципы современного иммунохимического анализа с применением разнообразных меток, обсуждаются методы синтеза КТ и способы их гидрофилизации, охарактеризована структура антител, методы их конъюгации с различными метками. Особое внимание

уделено обоснованию применения в качестве меток антител КТ, флуоресцирующих в ближней инфракрасной области спектра.

В Главе 2 представлен экспериментальный материал и методики гидрофилизации многослойных КТ и получения конъюгатов КТ с антителами, а также технологии разработки иммунохроматографических тест-систем. Описан алгоритм исследований КТ и их конъюгатов с применением физико-химических методов анализа, а также методология проведения ИХА для определения gB вируса болезни Ауески.

В Главе 3 представлены результаты исследований по разработке методик модификации многослойных квантовых точек с выбором оптимального полимерного покрытия, которые проявляют люминесценцию в ближней инфракрасной области (700 нм и 800 нм), что лежит в области прозрачности биологических матриц и оптимально для иммунохимического анализа белковых маркеров заболеваний. Результаты спектральных исследований показывают, что CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS-ПТВП-КТ обладают хорошей стабильностью и биосовместимостью, что делает их перспективными для иммунохимического анализа и биоконъюгации. Особое внимание уделяется исследованию взаимодействия КТ с компонентами тест-системы с целью оптимизации условий анализа.

В Главе 4 описаны методические подходы, предложенные для конъюгации многослойных КТ состава CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS с антителами против gB вируса болезни Ауески. На основании экспериментальных и литературных данных предложено объяснение влияния различных факторов на иммунную активность антител. Изучена взаимосвязь интенсивности сигнала тестовой зоны от условий (pH, соотношение реагентов) проведения конъюгации и выбраны оптимальные условия для проведения ориентированной иммобилизации антител на поверхности КТ. Показано, что использование буферного раствора MES с pH = 5 увеличивает сигнал тестовой линии почти в 2 раза.

В Главе 5 представлены результаты оптимизации условий для проведения анализа КТ, антител и их конъюгатов методами КЗЭ, ВЭЖХ и эксклюзионной хроматографии. На основании полученных экспериментальных данных для смеси КТ, антител и конъюгатов сделан вывод об эффективности и селективности анализа исследуемых аналитов методами КЗЭ, ВЭЖХ и эксклюзионной хроматографии, что позволяет проводить определение качества используемых образцов наиболее доступными и широко применяемыми методами.

В Главе 6 представлена возможность количественного иммунохроматографического анализа (ИХА) с применением портативного флуоресцентного ридера. Определены оптимальные условия для проведения ИХА и характеристики нового ридера, которые были разработаны с целью увеличения чувствительности анализа.

В Выводах кратко сформулированы основные достижения данной работы. Научные положения, выдвигаемые в диссертации, выводы и рекомендации надежно обоснованы и не вызывают сомнения. Диссертация обладает внутренним единством, написана ясным языком, отражает высокую квалификацию автора и хорошо оформлена.

Практическая и теоретическая значимость представленного исследования заключалась в установлении зависимостей и подходов, способствующих повышению интенсивности флуоресценции конъюгатов КТ на тест-полосках, которые могут быть применены для снижения предела обнаружения различных заболеваний в биологических средах. Показана возможность количественного ИХА с использованием многослойных КТ в качестве меток с применением разработанного портативного флуоресцентного ридера. В результате этой работы разработаны способы получения стабильных в буферных растворах конъюгатов CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS-КТ с антителами, выявлены и обоснованы основные факторы, определяющие поведение гидрофильных КТ и их конъюгатов в иммунохроматографии, в том числе определена изоэлектрическая точка, оптимальный диапазон pH-стабильности и условия конъюгирования. Разработаны способы определения КТ и их конъюгатов с белками методами КЗЭ и ВЭЖХ и исследования их физико-химических свойств. Разработан макет сканера и программное обеспечение для обработки получаемых во время сканирования спектров флуоресценции КТ и их конъюгатов с белками.

На основании проведенных исследований разработан ридер и программное обеспечение для считывания сигнала тестовой зоны полоски и вывода результата анализа в автоматическом режиме, позволяющий проводить количественный анализ.

Достоверность результатов исследования и выводов подтверждена использованием современных методов исследования и внутрилабораторной воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с использованием современного оборудования. Помимо этого, достоверность результатов исследования и выводов подтверждена их публикацией в рецензируемых российских и зарубежных журналах. Представленные в диссертационной работе результаты исследований прошли обширную апробацию на конференциях всероссийского и международного уровня. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 21 работах, включая 8 статей в журналах, входящих в перечень ВАК и библиографические базы данных Web of Science и Scopus, 25 тезисов докладов. Значимость проведенных исследований подтверждается их широкой поддержкой в рамках грантов Губернатора Московской области, «УМНИК-фотоника» и РНФ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Предложенные в работе подходы и полученные результаты могут быть использованы в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Федеральном исследовательском центре «Фундаментальные основы биотехнологии»

Российской академии наук», Саратовском национальном исследовательском государственном университете имени Н.Г. Чернышевского, в Липецком государственном техническом университете и других учебных, научных и научно-исследовательских центрах, лабораториях.

Замечания

Существенные замечания по диссертации отсутствуют. Имеющиеся непринципиальные замечания и вопросы носят характер пожеланий на будущее, ничуть не снижают общего положительного впечатления о работе.

1) Выбор КТ структуры CdTeSe/CdS/CdZnS/ZnS приводится без обоснования, какие преимущества КТ этого состава стали причиной выбора их в качестве материала для разработанной тест-системы.
2) В главе 3, разделе 3.1 диссертант сообщает о большей биосовместимости ZnS, по сравнению с халькогенидами кадмия, в качестве одного из обоснований для нанесения внешней пассивирующей оболочки ZnS на ядро КТ, примененных в работе, однако данный тезис не подкреплен литературными источниками или экспериментальными данными. На основании каких данных сделано данное заключение и какие именно свойства имелись в виду? Насколько биосовместимость флуоресцентной метки важна в контексте разработки *in vitro* иммунохроматографической тест-системы?
3) В разделе 3.1.1. приведены результаты электрофоретического исследования КТ в агарозном геле. Диссертантом сделан вывод об одинаковой электрофоретической подвижности всех исследованных образцов, однако из рисунка 32 видно, что образцы 600 нм (1) и 700 нм (4) имеют вдвое больший шлейф по сравнению с образцами 640 нм (2) и 680 нм (3). Данный эффект никак не отражен в тексте диссертации.
4) В главе 4 на основе экспериментальных и литературных данных диссертантом сделан вывод об оптимальной стехиометрии между меткой и антителом (1:1) для достижения максимальной иммунной активности конъюгата, при этом данные о стехиометрии компонентов в полученных конъюгатах не приведены. Осуществляли ли исследование стехиометрии в конъюгатах или данный вывод носит сугубо теоретический характер?
5) Автореферат и диссертация содержат ряд опечаток и неудачных формулировок, затрудняющих восприятие материала. В автореферате присутствуют ссылки на несуществующие рисунки (предположительно не удалены при копировании с диссертации).

Таким образом, диссертация «Иммунохроматографическая тест-система на основе многослойных халькогенидных квантовых точек, флуоресцирующих в ближней

инфракрасной области», является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне, и соответствует критериям, установленным пунктами 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, с изменениями и дополнениями) и пунктами 2.1-2.5 «Положения о присуждения ученых степеней в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук» от 29 марта 2024 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, с учетом соответствия паспорту специальности, по которой проходит защита диссертации, а ее автор, Новикова Сагила Аладдиновна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия.

Отзыв заслушан, обсужден и утвержден на совместном заседании кафедры аналитической химии и химической экологии и кафедры общей и неорганической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» (протокол № 1 от 28 августа 2025 г.).

Зав. кафедрой общей и неорганической химии,
доктор химических наук (02.00.02 – аналитическая химия),
профессор Горячева Ирина Юрьевна

Зав. кафедрой аналитической химии
и химической экологии,
доктор химических наук (02.00.02 – аналитическая химия),
доцент Русанова Татьяна Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Тел. +7(8452)51-64-11, E-mail: tatyanarys@yandex.ru.
Сайт организации: http://www.sgu.ru/
Почтовый адрес: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д.83, корп. 1, Институт химии СГУ.
Телефон: +7(8452)51-69-60.

Подпись Горячевой И.Ю. удостоверяю
Ученый секретарь
Ученого совета СГУ В.Г. Семенова
«29» августа 2025 г.

Подпись Русановой Т.Ю. удостоверяю
Ученый секретарь
Ученого совета СГУ В.Г. Семенова
«28» августа 2025 г.

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»
(СГУ)
Астраханская ул., д. 83, г. Саратов, 410012
Тел. 8 (8452) 26-16-96, факс 8 (8452) 27-85-29
E-mail: rector@sgu.ru
http://www.sgu.ru

10.04.2025 № 3300-исх
На № _____ от _____

Председателю диссертационного
совета 01.4.002.92
при Федеральном государственном
бюджетном учреждении науки
Институте общей
и неорганической химии
им. Н.С. Курнакова
Российской академии наук
д.ф.-м.н. Филиппову М.Н.

Глубокоуважаемый Михаил Николаевич!

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» в лице проректора по научной работе и цифровому развитию Короновского Алексея Александровича подтверждает согласие выступить в качестве ведущей организации по диссертационной работе Новиковой Сагилы Аладдиновны «Иммунохроматографическая тест-система на основе многослойных халькогенидных квантовых точек, флуоресцирующих в ближней инфракрасной области» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия (Химические науки).

Отзыв ведущей организации будет оформлен и утвержден на основании заключения специалистов кафедры аналитической химии и химической экологии и кафедры общей и неорганической химии, одно из направлений деятельности которых соответствует тематике диссертации Новиковой С.А.

Сведения о ведущей организации

Полное наименование организации	федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный

	исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»
Сокращенное наименование организации	ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», Саратовский университет, СГУ
Место нахождения	Российская Федерация, г. Саратов
Почтовый адрес	410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83
Телефон/факс	+7-8452-27-14-96/ +7-8452-26-16-96
Адрес электронной почты	rector@sgu.ru
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	http://www.sgu.ru/

Список основных публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации соискателя в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Штыков, С.Н., Смирнова, Т.Д. и Русанова, Т.Ю. Нанообъекты для люминесцентного определения фторхинолонов. Журнал аналитическо й химии 78, 1437–1451 (2023). https://doi.org/10.1134/S1061934823110096
2. Казимирова, К.О., Штыков, С.Н. Адсорбция и концентрирование анионных азокрасителей на наномагнетите, модифицированном катионными полиэлектролитами. Журнал аналитическо й химии 79, 1724–1732 (2024). https://doi.org/10.1134/S1061934824701296
3. Drozd D.D., Strokin P.D., Kornilov D.A., Drozd A.V., Burov A.M., Ushakov A.V., Goryacheva O.A., Goryacheva I.Yu., Enhancement of the alloyed CdZnSeS/ZnS quantum dots photoluminescence by thiol ligands capping, Chemical Engineering Journal, 2024, 492, 152278, https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.152278.
4. Goryacheva O.A., Tsyupka D.V., Pigarev S.V., Strokin P.D., Kovyrshina A.A., Moiseev A.A., Popova N.R., Goryacheva I.Yu. Cerium dioxide nanoparticles for luminescence based analytical systems: challenging nanosensor and effective label, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2024, 174, 117665, https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117665.
5. Tsyupka D.V., Podkolodnaya Y.A., Khudina E.A., Koganova D.G., Goryacheva O.A., Abramova A.M., Goryacheva I.Yu., Anthracycline antibiotics detection using turn-off luminescent nanosensors, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2024, 177, 117774, https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117774.
6. Demina P.A., Grishin O.V., Malakhov S.N., Timaeva O.I., Kulikova E.S., Pylaev T.E., Saveleva M.S., Goryacheva I.Y. Effect of photoconversion conditions on the spectral and cytotoxic properties of photoconvertible fluorescent polymer markers, Physical Chemistry Chemical Physics, 2024, 26, 17, 13078 – 13086, https://doi.org/10.1039/D3CP04606K.
7. Ponomaryova T.S., Olomskaya V.V., Abalymov A.A., Anisimov R.A., Drozd D.D., Drozd A.V., Novikova A.S., Lomova M.V., Zakharevich A.M., Goryacheva I.Y., Goryacheva O.A., Visualization of 2D and 3D tissue model via size-selected aqueous AgInS/ZnS quantum dots, ASC Applied materials & Interfaces, 2024, 16, 31, 40483–40498, https://doi.org/10.1021/acsami.4c05681.

8. Kozyreva Z.V., Demina P.A., Sapach A.Y., Terentyeva D.A., Gusliakova O.I., Abramova A.M., Goryacheva I.Y., Trushina D.B., Sukhorukov G.B., Sindeeva O.A. Multiple Dyes Applications for Fluorescent Convertible Polymer Capsules as Macrophages Tracking Labels, Heliyon, 2024, V. 10, Iss. 10, E30680, https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30680, IF 4.0.
9. Ковыршина А.А., Бакал А.А., Савельева М.С., Горячева И.Ю., Демина П.А. Исследование зависимости физико-химических свойств флуоресцентных гибридных полимерных носителей от условий гидротермального синтеза, Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 15–27
10. Markina N.E., Goryacheva I.Yu., Markin A.V., SERS as a tool for determination of structurally related compounds: The case of sulfanilamide class antibiotics, Talanta, 2024, 277, 126433, https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126433
11. Goryacheva O.A., Kokorina A.A., Podkolodnaya Y.A., Mishra P.K., Goryacheva I.Y. Express test for NT-proBNP competitive detection based on lateral flow immunoassay using silanized fluorescent quantum dots. Talanta Open. 2023, 7, 100186, 10.1016/j.talo.2023.100186,
12. Tsyupka D.V., Mordovina E.A., Ponomaryova T.S., Drozd D.D., Goryacheva I.Yu., Goryacheva O.A. Luminescence behavior of colloid quantum dots in the presence anthracycline antibiotic mitoxantrone: surface interaction and luminescence quenching, size and composition dependence, potential for clinical study. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2023, 671, 131648, 10.1016/j.colsurfa.2023.131648
13. Demina P.A., Sindeeva O.A., Abramova A.M., Saveleva M.S., Sukhorukov G.B., Goryacheva I.Y., Fluorescent polymer markers photoconvertible with a 532 nm laser for individual cell labeling. Journal of Biophotonics, 2023, V 16, N 6. e202200379. https://doi.org/10.1002/jbio.202200379.
14. Mescheryakova S.A., Matlakhov I.S., Strokin P.D., Drozd D.D., Goryacheva I.Yu., Goryacheva O.A., Fluorescent alloyed CdZnSeS/ZnS nanosensor for doxorubicin detection, Biosensors 2023, 13, 596. https://doi.org/10.3390/bios13060596
15. Markina N.E., Goryacheva I.Y., Markin A.V., Amplification of SERS Signal of Methotrexate Using Beta-Cyclodextrin Modified Silver Nanoparticles, Colloids and Interfaces 2023, 7(2), 42; https://doi.org/10.3390/colloids7020042
16. Goryacheva O.A., Pidenko P.S., Markin A.V., Markina N.E., Tsyupka D.V., Mordovina E.A., Ponomaryova T.D., Meshcheryakova S.A., Kornilov D.A., Strokin P.D., Drozd D.D., Podkolodnaya Y.A., Kovyrshina A.A., Morozova I.V., Shelekhova T.V., Goryacheva I.Yu. Current trends and challenges in the mitoxantrone measuring in biofluids and new pharmaceutical systems, Trends in Analytical Chemistry, 169 (2023) 117373 https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117373

Проректор по научной работе
и цифровому развитию А.А. Короновский