

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Алсовэйдди Али Кадхим Мохаммед на тему: «Микробные сенсорные системы для определения антибиотиков в водных растворах», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Актуальность работы. Биосенсоры являются аналитически чувствительной и недорогой альтернативой стандартным методам, применяемым сегодня для определения аналита. Биосенсоры представляют собой аналитические приборы для селективного определения веществ, в которых используется комбинация биологической системы узнавания и физического преобразователя. Биологический сигнал конвертируется с помощью преобразователя в физический сигнал, эквивалентный определяемому веществу. Применение новых биологических систем узнавания весьма привлекательно для развития чувствительных методов определения бактерий. Существуют различные типы биосенсоров в зависимости от типа преобразователя используются электрохимические, физические и оптические биосенсоры. В микробных биосенсорах микроорганизмы интегрированы с различными типами преобразователей. Они экономичны, чувствительны и надежны. Микробные биосенсоры успешно используются в качестве средства скрининга в экологических исследованиях, различного типа мониторинга, в клинических исследованиях, пищевой и сельскохозяйственной промышленности. Бактерии представляют собой недорогую альтернативу при изготовлении биосенсоров, поскольку их можно производить в больших количествах посредством культивирования клеток. Кроме того, по сравнению с другими клетками высших организмов, таких как клетки растений, животных и человека, микробными клетками легче манипулировать, они обладают большей жизнеспособностью и стабильностью *in vitro*, что может значительно упростить процесс изготовления и повысить эффективность биосенсоров. Бактерии, состоящей

из многочисленных ферментов и кофакторов/коферментов, способны реагировать на различные химические вещества, что можно использовать в качестве сигнала для сенсорных целей. Микробные сенсорные системы для определения антибиотиков привлекают все большее внимание благодаря их мощному потенциалу, позволяющему обеспечить быстрый, чувствительный мониторинг в режиме реального времени, а также низкой себестоимости производства, возможности минимизации и легкой интеграции с другими методами. Поэтому актуальность работы не вызывает сомнения.

Научная новизна работы. Впервые был предложен новый метод определения канамицина и хлорамфеникола в жидкости с помощью биосенсорной тест-системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем. Был разработан новый подход для оценки чувствительности микробных клеток к антибиотикам на примере канамицина с помощью сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем. Впервые получены антиампициллиновые фаговые антитела и показана возможность их применения для определения ампициллина методом дот-иммуноанализа.

Практическая и теоретическая ценность работы. Представленные результаты демонстрируют возможность определения канамицина и хлорамфеникола в жидкости с помощью сенсорной тест-системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем. Регистрация изменения аналитического сигнала сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем в результате воздействия антибиотика на бактерии позволяет оценить их восприимчивость к исследуемому антибиотику.

На примере ампициллина отработана методика получения

специфичных антител с использованием технологии фагового дисплея. Антиампициллиновые фаговые антитела обладают специфичностью в отношении ампициллина и применимы для его определения методом дот-иммуноанализа с визуальным учетом результатов. Установлено, что антиампициллиновые фаговые антитела не взаимодействуют с тетрациклином, канамицином, L-фенилаланином, L-триптофаном и L-цистеином.

По материалам исследования разработано и издано учебное пособие для студентов старших курсов по определению хлорамфеникола с помощью сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем.

Полученные результаты могут быть применены в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно—практических работ по дисциплине «Биотехнология» для студентов, обучающихся по направлению «Биотехнология».

Структура диссертации. Диссертационная работа выполнена на сертифицированном оборудовании, с продуманной схемой экспериментальных исследований, в работе применялись оригинальные микробиологические и физико-химические методы исследования. Структурно диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, 2-х глав основных результатов исследования, заключения, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Диссертационная работа изложена на 106 страницах компьютерного текста, содержит 1 таблицу, 30 рисунков. Библиографический список включает 155 источников, в том числе 145 на иностранном языке.

Автором во введении четко сформулированы цели и задачи исследовательской работы, показала научная и практическая значимость.

В литературном обзоре оценено состояние изученности вопроса на основе анализа большого количества современной зарубежной литературы. Литературный обзор изложен хорошим языком и дает полное представление о глубине проработки автором решаемых задач; представлен критическим анализом научных публикаций по теме исследования, а также краткой информацией о масштабах применения антибактериальных препаратов в мире, важности развития методов их определения; основных методах определения антибиотиков, в том числе, с помощью биосенсорных систем.

Во второй главе диссертации описаны материалы и методы исследований; микроорганизмы и условия их культивирования, используемые растворы, методология определения антибиотиков сенсорной системой на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем и проведение анализа с применением компактного акустического анализатора на основе резонатора с поперечным электрическим полем, световая фазово-контрастная микроскопия, конфокальная микроскопия, просвечивающая электронная микроскопия, аффинная селекция антител из фаговой библиотеки, дот-иммуноанализ, метод твердофазного иммуноферментного анализа.

В третьей главе приведены данные и описываются акустические сенсорные системы для определения канамицина, экспресс-анализ воздействия амингликозидов на бактерии с помощью акустической сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем и анализ антибиотиков с помощью компактного акустического анализатора на основе резонатора с поперечным электрическим полем.

Далее следуют разделы: Заключение, Перспективы дальнейшей разработки темы, Список сокращений и условных обозначений и Список литературы.

Достоверность результатов исследований не вызывает сомнений.

Все данные статистически обработаны. Сделанные выводы логично вытекают из полученных автором результатов. Работа написана грамотным научным языком, хорошо иллюстрирована и имеет законченный вид. Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.

Результаты, полученные в ходе выполнения работы были представлены на 2-й и 3-й международной научной конференции PLAMIC 2020 и PLAMIC 2022 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» (Саратов, 2020; Санкт-Петербург, 2022), II и III Международной научной конференции «Исследования молодых учёных в биологии и экологии» (Саратов, 2021, 2022), национальной научно-практической конференции «Зыкинские чтения», посвященной памяти д.м.н., проф. Зыкина Л.Ф. (Саратов, 2021, 2022, 2023).

Особенно стоит отметить, что данная работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ 19-07-00304 «Разработка новых принципов создания акустических биологических анализаторов нового поколения для быстрого определения концентрации и жизнеспособности бактериальных клеток в жидкой фазе для биосенсорных информационных систем» (2019-2021); РНФ № 22-29-00587 «Акустические микробные сенсорные системы для определения антибиотиков в проводящих растворах» (2022-2023 гг.), РНФ № 22-24-00417 «Разработка оптической тест- системы для анализа антибиотиков» (2022-2023 гг.).

По теме диссертации опубликовано 19 работ, в том числе 11 статей в научных изданиях, индексируемых международными базами данных, перечень которых определен в соответствии с рекомендациями ВАК РФ а три из которых – в ведущих международных журналах.

Существенных замечаний по данной работе нет. Однако при анализе диссертационной работы возник ряд замечаний по оформлению и дискуссионный вопрос:

Стр. 40 – не указана молярность фосфатного буфера

Стр. 57, как и на странице 71 – утверждается «с увеличением концентрации антибиотика количество жизнеспособных микробных клеток в поле зрения уменьшается». Скорее всего, на данных рисунках мы видим уменьшение числа клеток бактерий в зависимости от концентрации антибиотика.

В разделе «Обзор литературы» утверждается, что «Определяющее свойство антибактериальных препаратов – способность избирательно угнетать жизнедеятельность бактерий. Под избирательностью понимают: - активность только в отношении микроорганизмов при отсутствии влияния на клетки макроорганизма; - действие на определенные виды бактерий». Однако, основной принцип живой природы – все действует на все. И мы можем только усиливать положительное влияние и нивелировать отрицательные явления.

Заключение. Сделанные замечания носят, в основном, дискуссионный характер и не снижают научную и практическую значимость работы. Следует отметить, что диссертационная работа Алсовэйд Али Кадхим Мохаммед выполнена автором самостоятельно на высоком методическом уровне и является законченной научно-квалификационной работой, которая отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Работа имеет внутреннее единство, содержит обобщенный материал научных результатов и положений, выдвигаемых диссертантом для публичной защиты, что свидетельствует о личном вкладе автора в науку и практику. Предложенные автором новые решения научно аргументированы. Выводы соответствуют полученным результатам экспериментов. Считаю, что диссертационная работа Алсовэйд Али Кадхим Мохаммед на тему: «Микробные сенсорные системы для определения антибиотиков в водных растворах» по своему объему, методическому уровню выполненных исследований, новизне,

актуальности, теоретической и практической ценности полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а ее автор, Алсовэйти Али Кадхим Мохаммед, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Официальный оппонент

Игнатов Сергей Георгиевич



заведующий лабораторией планетарной и исторической геокриологии Геологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

доктор биологических наук (03.02.03 – микробиология, 2011 год).

« 3 » 4 2024 г.

Подпись Игнатова С. Г. заверяю

Декан Геологического факультета МГУ  Н. Н. Еремин



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 119991, Москва, ГСП-1, 1 Ленинские Горы, телефон: +7 (495) 939-10-00, e-mail: info@rector.msu.ru.