

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Петрова Александра Ивановича на тему:

«Исследование и практическая реализация программно-аппаратных средств проведения полимеразной цепной реакции с наблюдением в реальном времени», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 01.04.01 - Приборы и методы экспериментальной физики

Представленная на рассмотрение диссертационная работа состоит из введения, 6-ти глав и заключительного раздела, содержащего основные результаты и выводы. Работа изложена на 104 страницах машинописного текста, дополнена 41 рисунком, 12 таблицами, включает список литературы из 68 наименований. По теме диссертации опубликовано 11 статей в изданиях, включенных в список ВАК РФ.

Актуальность темы диссертационной работы вытекает из потребности разработки новых подходов к проектированию эффективных аппаратно-программных комплексов (АПК) для разрабатываемых отечественных анализаторов нуклеиновых кислот (АНК), реализующих полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ПЦР-РВ). АНК состоит из теплового блока (амплификатора) и оптического блока (детектора-флуориметра). АПК АНК позволяют обеспечить полную автоматизацию управления процессом ПЦР-РВ, автоматизацию измерения сигналов флуоресценции и анализа кинетики происходящей реакции, реализовать эффективные методы обработки данных для достижения высоких аналитических характеристик приборных комплексов и осуществлять непрерывный контроль работоспособности технических средств.

Базируясь на результатах анализа существующих устройств и алгоритмов обработки данных автор формулирует **цель и задачи** диссертационной работы.

Цель работы – развитие научно-практических основ создания современных аппаратно-программных средств проведения ПЦР-РВ.

Задачи исследования – исследование оптимальных режимов управления амплификатора для эффективного проведения ПЦР; совершенствование алгоритмов первичной и вторичной обработки сигнала флуоресценции для многокомпонентного количественного и качественного анализа ПЦР-РВ; разработка программного обеспечения для серии АНК.

Подход автора при решении поставленных задач – ориентация на современные методы оптимизации при разработке алгоритмов представляется правомерным и достаточно обоснованным.

Положения, выносимые на защиту

- Результаты экспериментальных исследований рабочих процессов в тепловом блоке АНК,
- Результаты использования автоматного языка при реализации алгоритмов первичной и вторичной обработки сигналов флуоресценции;
- Результаты экспериментальных исследований АНК.

Кратко остановлюсь на содержании отдельных глав диссертации.

Глава 1 посвящена обзору методов технологии реализации проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), при этом выделены основные характеристики анализатора нуклеиновых кислот (АНК), дано определение кинетических кривых и сформулирована задача разработки ПО для приборов, реализующих ПЦР-РВ. Показано, что для уменьшения шумовой составляющей и повышения чувствительности флуориметрического детектора АНК, т.е. для непосредственного повышения эффективности реакции амплификации, требуется **синтезировать оптимальные алгоритмы первичной и вторичной обработки сигнала флуоресценции**. Сформулированы цель и задачи диссертационного исследования.

Глава 2 посвящена исследованию тепловых режимов амплификации при проведении ПЦР на приборах серии АНК. Сделаны выводы, что из-за большой разности температур реакционной смеси в пробирке и планшета для образцов при больших скоростях нагрева/охлаждения не рекомендуется использовать скорости нагрева/охлаждения более 2°C.

В Главе 3 показан синтез оптимального алгоритма первичной обработки сигнала флуоресценции ПЦР, основанный на следующих выводах: период дискретизации отсчетов АЦП должен быть намного меньше периода изменения сигнала флуоресценции; для получения оценки функции плотности вероятности регистрируемого сигнала флуоресценции в качестве оцениваемого параметра достаточно использование фильтра низких частот

Глава 4 посвящена разработке и апробации алгоритмов управления на основе созданных проблемно-ориентированного языка (ПОЯ) управления проведением анализа ДНК пользователем, автоматного языка (АЯ) управления прибором и промежуточного автомата, связывающего ПОЯ и АЯ.

Глава 5 содержит исследование алгоритмов вторичной обработки сигнала флуоресценции с точки зрения их усовершенствования. С этой целью впервые проведена классификация кинетических кривых для обнаружения наличия ПЦР-реакции и выбора наилучшего алгоритма определения параметров реакции. Введено **количественное определение признака наличия ПЦР-реакции как отношение максимума производной к стандартному отклонению амплитуды шумов производной, рассчитанных на 5 - 10 циклах**. На основе анализа формы кривой введен **признак аномальности кривой** как отношение полуширин пика максимума производной. Также в главе рассмотрены особенности количественных измерений содержания нуклеиновых кислот методом ПЦР-РВ, выбор модельной функции при аппроксимации кинетических кривых ПЦР-РВ.

В Главе 6 представлены результаты внедрения разработанных АПК в приборах, реализующих ПЦР-РВ

Отмечая высокий теоретический и методический уровень рассматриваемой диссертационной работы, хотелось бы высказать следующие замечания:

1 В обзоре литературы не указаны авторы, также исследовавшие тепловое состояние амплификаторов ДНК (Белова О.В., Крутиков А.А., Бакай Д.А.)

2. Представленная в главе 2 математическая модель теплового состояния элемента Пельтье адекватна лишь для описания работы элементов в стационарном режиме, и не подходит для циклического режима работы при проведении режимов нагрева-охлаждения, аналогичных ПЦР-протоколу
3. Кроме того, в главе 2 исследуются диапазоны напряжения питания элементов Пельтье для достижения максимальной скорости нагрева и охлаждения. Однако непонятно, почему определяется оптимальное значение напряжение (рис. 9), а не силы тока, которая входит в формулы (15)-(17).
4. Также не стоит забывать, что тепло- и холодопроизводительность термоэлементов Пельтье зависит от диапазона температур на концах полупроводниковых столбиков в данный момент времени, а также от используемых полупроводниковых материалов, следовательно, полученные результаты, а именно по тексту: «рекомендованы параметры режимов питания элементов Пельтье в режиме нагрева—охлаждения: $U_{нагр} = 19 \text{ В}$, $U_{охл} = 14 \text{ В}$ » имеют практическую ценность лишь для исследуемых в экспериментальных исследованиях элементов Пельтье, что снижает практическую значимость проведенных исследований.
5. Кроме того, на с.43 автор утверждает, что найденные значения напряжения позволили «увеличить скорость нагрева в 2 раза», однако непонятно, по сравнению с чем.
6. В Главе 3 (стр. 48) сделан вывод о синтезе оптимального алгоритма первичной обработки сигнала флуоресценции ПЦР, однако стиль изложения материала не позволяет четко выявить разработанный алгоритм и убедиться в его оптимальности, в частности, не представлена блок-схема алгоритма.

Достоверность результатов, полученных автором диссертации с учетом принятых допущений, в целом не вызывает сомнения и подтверждается тем, что применяемые теоретические подходы основаны на известных физических принципах и согласуются с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации. Результаты экспериментальных исследований подтверждены данными, полученными референтными методами.

Научная ценность диссертации состоит в разработке основ проектирования эффективных программно-аппаратных средств проведения ПЦР-РВ для обнаружения и количественного определения нуклеиновых кислот

Практическая значимость работы подтверждается тем, что разработанные алгоритмы первичной и вторичной обработки сигналов легли в основу программного обеспечения для серийно выпускаемых приборов серии АНК. Разделение алгоритмов управления на написанные на проблемно-ориентированном языке и автоматном языке повысило надежность работы АНК и позволило использовать одно и тоже программное обеспечение для различных типов приборов.

Завершенность работы не вызывает сомнения, поскольку достигнута заявленная автором цель развитие научно практических основ создания современных программно-аппаратных средств проведения ПЦР-РВ.

Оформление диссертационной работы

Работа написана хорошим техническим языком, построена логично. Имеющиеся опiski и орфографические ошибки не затрудняют чтение и осмысление результатов работы.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Общее заключение

- 1 Тема диссертации актуальна.
2. Содержание диссертации в полной мере отражает постановку цели и задач, сущность выполненных разработок и полученные результаты.
- 3 Основные научные положения и результаты, выносимые соискателем на защиту, имеют научную новизну
4. Результаты работы имеют практическую ценность.
- 5 Выводы по результатам работы обоснованы.

Выполненный анализ материалов, представленных на оппонирование, позволяет утверждать, что диссертация Петрова А.И. соответствует паспорту специальности 01.04. 01 - Приборы и методы экспериментальной физики и является законченной научно-квалификационной работой, сочетающей теоретический анализ с натурным экспериментом, совокупность которых является решением важной научно-технической проблемы, что соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г (ред. от 30.07.2014 г), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Автор диссертации, Петров Александр Иванович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 01.04. 01 - Приборы и методы экспериментальной физики.

Официальный оппонент:

К.т.н., доцент кафедры Э5
«Вакуумная и компрессорная техника»
Факультета «Энергомашиностроение»
МГТУ им. Н.Э.Баумана

Белова Ольга Владимировна

Контакты официального оппонента:

ФБГОУ ВО «МГТУ им. Н.Э. Баумана (НИУ)»

Веб-сайт: www.bmstu.ru

Почтовый адрес: 105005, Москва, 2-я Бауманская, д.5, стр.1

Тел.. 8-499-263-67-43

Моб. Тел. 8-903-778-57-51

E-mail. ovbelova@bmstu.ru

Подпись к.т.н., доцента кафедры Э5

Беловой О.В. заверяю:



А Г МАТВЕЕВ
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ

ТЕЛ 8499-263-67-69