

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый проректор Южного
федерального университета,
доктор химических наук

А. В. Метелица



_____ 2026 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации

федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Южный федеральный университет»
на диссертацию Есимбековой Елены Николаевны
«Ферментативное тестирование: методологические принципы и применение в
ингибиторном анализе» по специальности 1.5.6. Биотехнология
на соискание учёной степени доктора биологических наук

Актуальность избранной темы

Современная система экологического и санитарно-гигиенического контроля сталкивается с фундаментальным вызовом: экспоненциальный рост номенклатуры антропогенных ксенобиотиков, усложнение их химической природы и повсеместное распространение многокомпонентных загрязнений делают традиционные подходы, основанные на мониторинге предельно допустимых концентраций отдельных веществ, методологически несостоятельными. Химико-аналитические методы, обладая высокой избирательностью, не способны фиксировать интегральный биологический эффект, синергетические и антагонистические взаимодействия компонентов смесей, а также биодоступность токсикантов. Классическое биотестирование на целых организмах характеризуется существенной длительностью, высокой стоимостью и вариабельностью биологических ответов, что ограничивает его применение для оперативного скрининга. В этих условиях разработка Е.Н. Есимбековой концепции ферментативного тестирования как самостоятельного направления молекулярной экотоксикологии, сочетающего преимущества химического анализа (стандартизация, использование реагентов) и биологических методов (оценка биологического эффекта на уровне метаболических цепей), представляется актуальной и востребованной как для фундаментальной науки, так и для практики природоохранного мониторинга.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационное исследование выполнено в русле стратегических приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации, направленных на создание экологически безопасных и ресурсосберегающих технологий, а также обеспечение биологической безопасности страны. Работа

согласуется с задачами, обозначенными в Федеральном проекте «Сохранение биологического разнообразия и развитие экологического туризма» национального проекта «Экологическое благополучие», а также с государственной политикой в области химической и биологической безопасности, предполагающей совершенствование методов контроля качества объектов окружающей среды и пищевой продукции. Результаты исследования востребованы в рамках реализации ведомственных программ Росприроднадзора, Роспотребнадзора и Россельхознадзора по модернизации инструментария производственного и государственного экологического контроля.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна работы заключается в формировании целостной теоретико-методологической базы ферментативного тестирования как самостоятельного направления экологического мониторинга, сочетающего преимущества биодиагностики и химического анализа. Соискателем впервые сформулированы шесть взаимосвязанных методологических принципов (целевого выбора, мультиферментной интеграции, дифференциации подходов, интегральности экспрессной оценки, многоуровневой интерпретации и специализации), образующих логически замкнутую систему правил конструирования и применения тест-систем. Впервые установлены механизмы температурной инактивации олигомерных ферментов в матрицах природных полимеров; доказано, что использование крахмальных и желатиновых матриц приводит к стабилизации активности за счёт повышения энергии активации денатурации. Впервые разработана универсальная схема конструирования мультиферментных биолюминесцентных тест-систем на основе разных типов фермент-ферментных взаимодействий, что позволяет целенаправленно управлять аналитическими характеристиками, селективностью и чувствительностью создаваемых биосенсоров. Практическая значимость подтверждена созданием стабильных многокомпонентных ферментных реагентов, включая коммерческий продукт «ЭНЗИМОЛЮМ», и десятью патентами РФ, защищающими способы получения реагентов и методы их применения для экспресс-анализа воды, почвы и воздушной среды.

Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов

Для науки результаты работы имеют фундаментальное значение, формируя концептуальный каркас нового междисциплинарного направления на стыке энзимологии, биоинженерии и экотоксикологии. Установленные закономерности стабилизации ферментов в полимерных матрицах вносят существенный вклад в теорию белковой стабильности, раскрывая механизмы температурной инактивации. Шесть методологических принципов создают надежную теоретическую базу для целенаправленного дизайна биосенсорных платформ.

Практическая значимость исследования подтверждена созданием линейки востребованных отечественных биотехнологических продуктов: многокомпонентного реагента «ЭНЗИМОЛЮМ», одноразовых сухих дисков-реагентов и прототипов микрофлюидных чипов. Разработанные методы успешно апробированы на реальных объектах, включая сточные воды, природные экосистемы и сельскохозяйственную продукцию. Технологическая готовность разработок надежно защищена десятью патентами РФ. Совокупность этих результатов позволяет рассматривать работу как прочную основу для модернизации государственного экологического контроля и создания современных отечественных решений для природоохранного мониторинга, агроэкологии и пищевой промышленности.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты диссертационного исследования рекомендованы к активному внедрению в производственную деятельность аккредитованных государственных и коммерческих аналитических лабораторий, осуществляющих экологический мониторинг. Разработанные экспресс-методы на базе реагента «ЭНЗИМОЛЮМ» целесообразно использовать для оперативного первичного скрининга сточных вод промышленных предприятий, природных водоемов и почвенных покровов, что позволит существенно оптимизировать финансовые и временные затраты на проведение рутинных анализов. Территориальным управлениям Роспотребнадзора и Росприроднадзора рекомендуется рассмотреть возможность интеграции данных ферментативных методик в действующие регламенты производственного и государственного экологического контроля в качестве этапа экспресс-диагностики.

Научным коллективам и исследовательским центрам, специализирующимся в области экотоксикологии, биоаналитики и биосенсорики, целесообразно продолжить развитие предложенных подходов. Перспективными направлениями являются дальнейшее расширение банка эталонных образцов сложных природных матриц, а также разработка и валидация математических моделей (включая алгоритмы машинного обучения) для автоматизированной агрегации многомерных данных батареи тестов в единые интегральные индексы токсичности. Профильным высшим учебным заведениям рекомендуется активно внедрять разработанные методические подходы и практические кейсы в образовательный процесс.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и заключений диссертации не вызывают сомнений и обеспечиваются применением современного экспериментального оборудования, корректным использованием статистических методов обработки данных, достаточным объемом экспериментального материала, а также воспроизводимостью

полученных результатов. Все ключевые положения работы многократно апробированы на модельных системах и подтверждены при анализе реальных объектов окружающей среды.

**Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом,
замечания по оформлению**

Диссертация Е.Н. Есимбековой представляет собой завершенное научное исследование, отличающееся высокой степенью логической стройности и внутренней согласованности всех разделов. Автор последовательно проводит читателя от постановки фундаментальной проблемы – отсутствия в арсенале экологического мониторинга методов, позволяющих оценивать токсическое воздействие на молекулярном уровне, – до создания конкретных биотехнологических продуктов, готовых к практическому применению. Структура работы подчинена единой методологической логике, и каждый последующий раздел органично вытекает из результатов предыдущего, что свидетельствует о продуманности дизайна исследования на всех его этапах.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ, построена по традиционному принципу и состоит из списка сокращений и условных обозначений, введения, главы обзора литературы, главы, описывающей объекты и методы исследования, пяти глав собственных результатов и обсуждений, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 634 источника. Работа изложена на 336 страницах машинописного текста, иллюстрирована 121 рисунком и 34 таблицами.

Во введении обоснована актуальность темы, поставлены цель и задачи, раскрыты научная новизна, практическая ценность и основные положения, выносимые на защиту, с подтверждением их апробацией и публикациями. Первая глава представляет аналитический обзор эволюции биодиагностики, обосновывая выделение ферментативного тестирования в отдельную дисциплину. Во второй главе изложен методологический инструментарий, включая оригинальные алгоритмы математической коррекции результатов и протоколы иммобилизации биокатализаторов в природных полимерах, обеспечивающие метрологическую достоверность. В третьей автор анализирует чувствительность биферментной системы светящихся бактерий NAD(P)H:FMN-оксидоредуктазы и люциферазы к действию различных поллютантов, доказывая высокий потенциал данной тест-системы для применения в молекулярной экотоксикологии. Четвертая глава раскрывает биоинженерные возможности метода ингибиторного анализа через создание модификаций моно- и мультиферментных тест-систем, способных решать различные специализированные задачи. В пятой главе обоснована концепция использования батареи ферментативных тестов для интегральной диагностики экосистем, доказавшая свою высокую чувствительность к антропогенному загрязнению и скрытым токсическим эффектам. Шестая глава содержит физико-химический анализ стабилизации биокатализаторов в матрицах природных полимеров, подтвердивший значительное повышение их устойчивости к

температурным и химическим факторам среды. Седьмая глава описывает переход к созданию готовых биотехнологических решений, включая стабильные одноразовые реагенты и прототипы биосенсорных модулей, успешно апробированные на реальных объектах. В заключении резюмированы итоги, представлена концепция ферментативного мониторинга как самостоятельного научно-прикладного направления, а сформулированные методологические принципы определяют его эффективное применение для оперативного скрининга ингибиторной способности отдельных веществ, их смесей и интегральной оценки состояния объектов окружающей среды.

Замечаний по оформлению текста, таблиц и графического материала, снижающих научную ценность работы, не имеется. Текст изложен ясным научным языком, таблицы и рисунки информативны и хорошо иллюстрируют представленные результаты. В качестве пожелания к оформлению можно отметить, что сложные многопараметрические зависимости, представленные в четвертой главе, могли бы быть более наглядными при использовании трехмерных графиков, позволяющих одновременно оценивать влияние нескольких факторов. Отдельные подписи к рисункам в тексте автореферата диссертации содержат мелкий шрифт, что затрудняет их чтение при воспроизведении на бумажном носителе, однако это не влияет на содержательную часть работы. В целом, диссертация представляет собой полностью завершенное исследование, все поставленные задачи решены, выводы обоснованы и соответствуют полученным результатам.

Вместе с тем, в ходе коллективного обсуждения диссертации на заседании профильной кафедры ведущей организации сформировался ряд вопросов:

1. Поскольку многокомпонентный реагент «ЭНЗИМОЛИУМ» включает в себя не только ферменты, но и субстраты (в частности, NADH), как обеспечивается химическая стабильность субстратов в крахмальной матрице при длительном хранении, и исключен ли риск их неферментативного окисления, способного повысить фоновый сигнал при измерениях?

2. Интерпретация результатов, полученных с использованием батареи из семи и более ферментативных тестов, требует высокой квалификации исполнителя. Не планируется ли автором разработка алгоритмов машинного обучения или нейросетевых моделей для автоматической классификации многомерных матриц ответов и идентификации вероятного класса токсикантов?

3. Каким образом автор оценивает перспективу объединения предложенных ферментативных тест-систем с хроматографическими методами (например, ВЭЖХ или ГХ-МС)? Видится ли это как двухступенчатый скрининг (быстрый ферментативный для отсева «чистых» проб, затем хроматография для «тревожных»), или возможна более глубокая интеграция, например, использование ферментативных реакторов в качестве детектирующих элементов после хроматографического разделения? Какие конкретные шаги, по мнению

автора, необходимы для перехода от лабораторной апробации к такой гибридной аналитической платформе?

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации в полном объёме и достоверно отражает основное содержание представленной на соискание научно-квалификационной работы. Все ключевые методологические принципы, экспериментальные результаты, научные положения, выносимые на защиту, а также данные о научной новизне, теоретической и практической значимости работы полностью соответствуют тексту диссертации. Автореферат составлен с соблюдением требований действующих нормативных документов.

Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 230 научных работах, в том числе в 57 статьях в рецензируемых научных изданиях, индексируемых базами данных РИНЦ, SCOPUS и Web of Science (значительная часть которых относится к квартилям Q1–Q2), двух монографиях и десяти патентах Российской Федерации. Публикационная активность соискателя свидетельствует о широком признании результатов работы в профессиональном сообществе, а высокий импакт-фактор журналов подтверждает научную значимость полученных результатов на международном уровне.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней № 842 от 24 сентября 2013 г.

Таким образом, диссертация Есимбековой Елены Николаевны является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований **разработаны теоретические положения** о методологических принципах конструирования ферментативных тест-систем, закономерностях стабилизации ферментов в матрицах природных полимеров и механизмах их температурной инактивации, совокупность которых можно квалифицировать как **научное достижение** в области прикладной энзимологии и биотехнологии, **решена научная проблема** разработки теоретических основ и практических алгоритмов ферментативного ингибиторного анализа для интегральной экспрессной оценки состояния окружающей среды, имеющая важное социально-экономическое и хозяйственное значение для модернизации системы экологического контроля и обеспечения биологической безопасности страны, а также **изложены новые научно обоснованные биотехнологические решения** по созданию стабильных иммобилизованных ферментных реагентов, многокомпонентного коммерческого продукта «ЭНЗИМОЛЮМ», внедрение которых вносит значительный вклад в развитие отечественной биотехнологической отрасли и экологического мониторинга, и **соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14** «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями и дополнениями),

предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв подготовлен доктором биологических наук по специальности 1.5.4. «Биохимия», старшим научным сотрудником, главным научным сотрудником Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета Владимиром Анатольевичем Чистяковым.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры биохимии и микробиологии Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, протокол № 1 от «31» августа 2026 г.

Г.н.с. Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, доктор биологических наук, старший научный сотрудник

 Владимир Анатольевич Чистяков

И.о. заведующего кафедрой биохимии и микробиологии Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, кандидат биологических наук.

 Андрей Владимирович Горовцов



Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Личную подпись Чистякова В.А.
Горовцова А.В.

ЗАВЕРЕНО:

Главный специалист по управлению персоналом

М.И. Поддубина
« 31 » августа 20 26 г.