

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Панфёрова Василия Геннадьевича «Изучение взаимодействия антител с вирусными и бактериальными антигенами для создания экспрессных методов определения фитопатогенов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности биохимия – 03.01.04

В представленной работе разработка простых и экспрессных систем иммунодетекции на основе мембранного иммунохроматографического анализа (ИХА) была направлена на определение широкого спектра фитопатогенов картофеля. Наряду с решением важной практической задачи, создания эффективных систем выявления инфицированного посадочного материала, цель работы предусматривала изучение особенностей взаимодействия антител с корпускулярными анализитами – вирусами и бактериями в условиях ИХА.

В ходе выполнения исследований выработан ряд подходов, позволяющих значительно снизить предел ИХ определения. Агрегация магнитных и золотых наночастиц (НЧЗ) за счет их функционализации биотином и стрептавидином позволила в 32 раза снизить порог выявления вируса картофеля Х (ХВК). Образование дополнительно окрашенного продукта в тестовой зоне за счет введения меченных щелочной фосфатазой и НЧЗ антивидовых антител и инкубацией с субстратом обеспечила 27-кратное снижение предела детекции ХВК. Увеличение размера НЧ при восстановлении на их поверхности солей серебра и образовании оболочки приводило к усилению чувствительности в 10-15 раз. Эффект от золотого усиления, способствующего формированию тестовой зоне несферических НЧЗ размером до 370 нм, позволил снизить предел обнаружения ХВК в 240 раз и достичь уровня 17 пг/мл.

Несомненный интерес представляет разработанный мультипороговый тест, являющийся шагом в направлении количественного ИХА. Имобилизация в разных тест-зонах антител с разной аффинностью и концентрацией обеспечила возможность варьировать предел обнаружения ХВК в широком диапазоне от 3 до 2000 нг/мл и ранжировать исследуемый материал по степени инфицирования.

Возможность одновременного выявления нескольких патогенов осуществлена на примере мультиспецифического и мультиплексного ИХА. Первый вариант реализован при использовании мультиспецифического конъюгата и смеси антител к 5 вирусам в тест зоне. Мультиплексный формат, благодаря точечному нанесению множественных тест-зон позволял идентифицировать 10 патогенов картофеля.

Диссертационная работа выполнена на высоком техническом уровне, с использованием современных методов и подходов. Полученные результаты изложены четко и ясно, выводы логичны, достоверность предоставленных данных не вызывает сомнений. По числу и уровню публикаций диссертационное исследование Панфёрова В. Г. удовлетворяет докторской степени. Ряд незначительных замечаний не портит общего благоприятного впечатления от работы.

1. Не лишним было бы конкретизировать в названии «фитопатогенов картофеля».
2. Вызывает сомнение формулировка, что высокая электрофоретическая подвижность обусловлена разветвленностью комплексов. Сопротивление разветвленных молекул или комплексов, напротив, препятствует подвижности. Вероятно, высокую электрофоретическую подвижность разветвленного комплекса обусловил его значительный заряд.
3. Не указаны источник, молекулярная специфичность и изотип моноклональных антител.
4. Заявленный в качестве фитопатогена вирус картофеля А (АВК) не упоминается в работе.
5. Мольное соотношение в комплексах вирус-антитело 1:200 и 1:500. Как определялась «молекулярная масса» вируса? С чем связан феномен образования агрегатов при избытке антител? В аналогичных ситуациях увеличение избытка бивалентных антител обычно препятствует образованию преципитата, агглютината и т.д.

Материалы, представленные в автореферате, позволяют считать диссертационное исследование Панфёрова В.Г. законченной квалификационной работой, отвечающей настоящим требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям. Автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

Заведующий лабораторией биоконъюгатов,  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»  
доктор биологических наук,  
Буркин Максим Алексеевич

15 мая 2019

Контактные данные:

105064, Российская Федерация, Москва, Малый Казенный переулок, 5а  
ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова  
тел.: +7 (495) 917 2753; e-mail: burma68@yandex.ru

Подпись сотрудника Буркина М.А. удостоверяю:

Начальник отдела кадров



Е.В. Лукачёва