



Министерство здравоохранения  
Российской Федерации

ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-  
БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО  
(ФМБА РОССИИ)

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
БИОЛОГИЧЕСКОГО  
ПРИБОРОСТРОЕНИЯ»

(ФГУП «ГосНИИ БП»)

125424, Москва, Волоколамское шоссе, 75, к.1  
тел./факс 8 -495- 491-73-72  
E-mail: niibp@dol.ru

от 15.05 2019 г исх. № 01-26/356

В диссертационный совет Д002.247.01  
на базе ФИЦ Биотехнологии РАН

119071, г. Москва,  
Ленинский проспект, д.33, строение 2

#### ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы 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 03.01.04 Биохимия

Диссертация Панфёрова В.Г. посвящена актуальному вопросу повышению чувствительности биоаналитических систем, в частности, совершенствованию иммунохроматографического анализа (ИХА) для выявления вирусных и бактериальных фитопатогенов картофеля.

ИХА давно завоевал признание среди других иммунохимических методов анализа исключительной простотой проведения аналитической процедуры, способностью выявлять аналиты в широком диапазоне молекулярных масс - от низкомолекулярных соединений, до бактериальных клеток и вирусов, малым временем проведения анализа, возможностью визуальной оценки результатов. Однако, чувствительность ИХА в его традиционном варианте, с применением в качестве маркера антител наночастиц коллоидного золота (НКЗ) зачастую уступает различным вариациям метода твердофазного иммуноферментного анализа. В научной литературе последних десятилетий описаны многочисленные приемы повышения чувствительности ИХА за счет применения меток антител на основе квантовых точек, люминесцентных и фосфоресцентных (на основе ионов лантанидов) латексов, применения

спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния и т.п. К сожалению, многие из описанных методик повышения чувствительности требуют сложной лабораторной аппаратуры, многостадийного синтеза конъюгатов антител и меток, что затрудняет, либо делает невозможным, их широкое практическое применение.

На наш взгляд диссертация В.Г. Панфёрова решает проблему существенного повышения чувствительности ИХА за счет реализации достаточно простых и эффективных методик, которые лишь подчеркивают основные достоинства ИХА: его экспрессность, простоту постановки анализа, сохранение компактности аналитической системы.

Диссертант исследовал три основные возможности для повышения чувствительности: увеличение размера маркера и, соответственно, усиление контраста аналитической и контрольной зон теста, за счет аутометаллографии (НКЗ + соли серебра; НКЗ + соли золота), применение агрегации функционализированных магнитных частиц и НКЗ; применение ферментативной реакции для усиления окрашивания аналитической зоны теста на основе конъюгата щелочной фосфатазы с НКЗ.

Во всех предложенных вариантах было достигнуто существенное увеличение чувствительности ИХА. Перечисленные выше приемы повышения чувствительности не требуют сложного химического синтеза конъюгатов наночастиц с иммунным материалом, сохраняют компактность биоаналитической системы и простоту проведения аналитической процедуры в целом, несмотря на введение дополнительных стадий. Это открывает возможность широкого практического применения созданных методик и экспериментальных приемов не только для фитопатогенов, но и для других объектов, поскольку они в достаточной мере универсальны.

Работа обладает безусловной научной новизной и выполнена на высоком экспериментальном уровне. Степень достоверности полученных автором экспериментальных данных и сделанных на их основе выводов не вызывает сомнения.

В диссертации применен исчерпывающий набор современных методов иммунохимического исследования: сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, динамическое рассеяние лазерного света, применение биосенсора на основе поверхностного плазмонного резонанса для определения кинетических констант антител и Fab-фрагментов с целью дальнейшего конструирования тестов, электрофорез иммунных комплексов, количественные измерения денситограмм аналитической и контрольной зон ИХА тестов с помощью сканера и программы обработки изображений.



Особый интерес вызывает разработанный диссертантом мультипороговый ИХА для выявления фитопатогенов картофеля, в котором применение антител различной аффинности позволяет определить степень выраженности X вирусной инфекции картофеля.

Безусловным достоинством работы является описанный автором мультиплексный ИХА для выявления 11 патогенов картофеля, на основе смеси конъюгатов НКЗ и применения аналитической мембраны теста с нанесенными антителами захвата в формате 4x11 точек с дальнейшим усилением полученных зон теста солями серебра.

Разработанные в диссертации приемы анализа имеют важное практическое значение в ранней диагностике фитопатологии картофеля. Успешная апробация ИХА тест-систем была проведена совместно с ВНИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха и Всероссийским центром карантина растений. Разработанные мультиплексные ИХА тесты показали высокую чувствительность и специфичность по отношению к вирусам и бактериям, вызывающих инфекционные заболевания картофеля.

Сличение автореферата с текстом диссертации, размещенной в сети Интернет, показало, что автореферат адекватно и полно отражает содержание диссертации. Автореферат написан хорошим русским языком, прекрасно иллюстрирован. Работа практически лишена недостатков.

Считаем, что Панфёров Василий Геннадьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических по наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Отзыв составили:

Начальник отдела спектральных методов анализа ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения», доктор биологических наук, старший научный сотрудник

С.П. Ярков

Ведущий научный сотрудник отдела спектральных методов анализа ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения», кандидат технических наук

С.И. Третьяков

125424 г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 75  
к. 1, тел. (495)491 73 72, e-mail: [niibp@dol.ru](mailto:niibp@dol.ru)

Подписи С.П. Яркова и С.И. Третьякова заверяю:  
Ученый секретарь НТС ФГУП «ГосНИИБП»



М.Н. Левчук