

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Игнатова Сергея Георгиевича, на работу Разо Шиатеса «**Разработка новых систем иммунохроматографической диагностики фитопатогенов на основе закономерностей формирования комплексов антител и наночастиц**», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3 Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений и 1.5.6 Биотехнология

Актуальность темы диссертационного исследования

Работа Разо Шиатеса посвящена проблеме обеспечения продовольственной безопасности путем разработки систем идентификации фитопатогенов для успешной борьбы с возбудителями заболеваний. Продукция агропродовольственного сектора является одним из основных параметров в экономике любой страны. Данный сектор является основным источником питания человека и домашних животных. Прогнозируется что, к 2050 году инновации в агропродовольственных направлениях позволят накормить примерно 9,7 миллиарда человек. Однако воздействие на агропродовольственные товары (от поля до стола) различных факторов окружающей среды может способствовать распространению патогенов. Загрязнение сельскохозяйственных продуктов патогенами приводит не только к порче продукции, но и возможности пищевых отравлений. При этом пищевая продукция выступает связующим звеном между микробными патогенами и человеком. Быстрая адаптация микроорганизмов к изменяющимся условиям окружающей среды, таким как температура, pH, соленость, влажность, делает вредоносные микроорганизмы более опасными не только для продуктов аграрной промышленности, но и для человека. Раннее выявление болезней растений является решающим фактором для предотвращения или ограничения распространения растущей инфекции, которая может привести к значительным экономическим потерям. Существующие системы детекции являются трудоемким и дорогостоящим. Поэтому в последние годы предпринимаются значительные усилия для

разработки быстрых, специфичных, чувствительных и экономичных тестов, которые могут быть успешно использованы непосредственно в полевых условиях с использованием минимального оборудования и неподготовленного персонала. Таким требованиям полностью соответствуют тест-системы, основанные на иммунохроматографическом анализе (ИХА)

Поэтому актуальность темы диссертационного исследования Разо Шиатеса не вызывает сомнения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Разо Шиатеса выполнена на сертифицированном оборудовании, с продуманной схемой экспериментальных исследований, в работе применялись оригинальные методы исследования. В рамках данной диссертационной работы было опубликовано 17 работ, из них 4 статьи в научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 2 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России. Научные положения диссертации апробированы на 11 научных конференциях, материалы которых опубликованы в сборниках.

Большой охват российских и зарубежных источников (195 ссылок) в обзоре литературы свидетельствует о высокой осведомленности автора в отношении данной проблемы в мировой научной литературе.

Степень достоверности полученных результатов не вызывает сомнений, поскольку автором выполнен большой объем исследований; выводы, научные положения и рекомендации, сформулированные в диссертации вполне обоснованы и логически вытекают из результатов исследований.

Научная новизна проведенных исследований и полученных результатов

На примере фитопатогенных вирусов, впервые было показано, что предварительное формирование комплексов данных вирусов со специфичными к данному вирусу конъюгатом (антитела – наночастицы

золота) увеличивает чувствительность иммунохроматографической тест-системы в сэндвич формате.

Впервые показано, что формирование комплексов конъюгатов наночастиц золота и магнитных наночастиц увеличивает чувствительность иммунохроматографического анализа.

Впервые разработана высокочувствительная система для детекции патогена *Ralstonia solanacearum*.

Впервые показано, что метки биметаллических наночастиц (Au-Pt), обладающих каталитическими пероксидазо-подобными свойствами, повышают чувствительность иммунохроматографической системы для определения патогена *Erwinia amylovora*.

Практическая значимость полученных автором результатов

Результаты выполненной диссертационной работы имеют большое практическое значение. В рамках данной работы были разработаны и апробированы в полевых условиях иммунохроматографические тест-системы для детекции возбудителей трех экономически значимых заболеваний (черной ножки картофеля, бурой гнили картофеля и бактериального ожога плодовых культур). Были также разработаны и апробированы иммунохроматографические тест-системы для высокочувствительной детекции X- и Y- вирусов картофеля. Данные подходы могут быть использованы для детекции других фитопатогенов.

Содержание диссертации, ее завершённость

Диссертационная Раза Шиатеса представляет собой завершённый, логически выстроенный научный труд и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материалов и методов, результатов собственных исследований и обсуждения этих результатов, а также содержит обобщающее заключение, списка сокращений и список цитируемой литературы, содержащего 195 литературных источников, и двух приложений. Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит 42 рисунка и 9 таблиц. В конце диссертации приводятся обширные приложения

в виде таблиц с данными по апробации тест-системы на ИХА для детекции *E. amylovora* (приложение А) и результаты апробации тест-системы на ИХА для детекции *E. amylovora* (приложение Б).

Во введении обоснована актуальность проведения исследований по выбранному направлению. Далее следуют цели и задачи работы. Затем следует описание научной новизны и практической значимости работы. Описывается личное участие автора в получении результатов, апробация работы, публикации, место проведения работы, объем и структура диссертации, сокращения в тексте и положения, выносимые на защиту.

В главе 1 «Обзор литературы» приведен обзор литературы, на основании которого формируются цели и задачи исследования. В обзоре представлен анализ литературных данных, описывающих характеристики фитопатогенов и методы их детекции. Подробно анализируются конъюгаты нанодисперсных маркеров с антителами и системы усиления в ИХА.

В главе 2 «Материалы и методы» подробно приведены материалы и современные методы, использованные в работе.

В главе 3 «Основные результаты и их обсуждение» представлена экспериментальная часть работы, в которой приведены результаты экспериментов по получению и характеристике сывороток, выделению и характеристике антител к изучаемым фитопатогенам, синтез и характеристика наночастиц, синтез конъюгатов наночастиц с биомолекулами, разработка иммунохроматографических тест-систем для детекции фитопатогенов (с предварительным смешиванием, с двойным усилением, с увеличением размеров наночастиц золота и с Au-Pt-нанозимным усилением).

В Заключении автор привел логичный анализ результатов, полученных на всех этапах работы.

Основные положения, выносимые на защиту, и Выводы диссертационной работы соответствуют сформулированным целям и задачам работы, полностью отражают суть проведенных экспериментов, обоснованы

достаточным фактическим материалом и являются логическим завершением представленной диссертационной работы.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями, достаточно иллюстрирована рисунками и таблицами, написана понятным литературным языком. Содержание автореферата в краткой форме отражает содержание диссертационной работы, демонстрирует ее основные положения и выводы.

Основные замечания носят редакционный характер (в основном стилистического порядка) и не влияют на качество проделанной работы.

В процессе ознакомления с работой возникли некоторые вопросы дискуссионного характера:

1. Как долго стрипы сохраняют свою активность и при какой температуре хранения?
2. Мешает ли проведению анализа наличие посторонней микрофлоры?

Возникшие в процессе изучения диссертации замечания и вопросы ни в коей мере не снижали научную и практическую значимость результатов представленной работы, а также не влияли на общую положительную оценку диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Разо Шиатесы «Разработка новых систем иммунохроматографической диагностики фитопатогенов на основе закономерностей формирования комплексов антител и наночастиц», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3. Агрономия, агропочвоведение, защита и карантин растений и 1.5.6. Биотехнология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи, значимой в области защиты растений и биотехнологии – разработка иммунохимических методов детекции приоритетных фитопатогенов.

соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи биохимии – изучение особенностей биохимии покоящихся микобактерий и выходе из этого состояния.

Диссертация полностью соответствует п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № 12 от 23.09.2019г., а её автор Разо Шиатесы заслуживает присуждения ей учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3 - Агрономия, агропочвоведение, защита и карантин растений и 1.5.6 - Биотехнология., а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук
(03.02.03 Микробиология)

Игнатов Сергей Георгиевич

ГНС, Заведующий лабораторией Нанобиотехнологии
отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов,
ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и
биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека Российской Федерации
(адрес: 142279, Россия, Московская область, Серпуховской р-н, п. Оболенск)
Тел. 8(4967) 36-07-73 факс 8(4967) 36-00-10
ignatov@obolensk.org

Подпись

Игнатова С.Г. удостоверяю

Ученый секретарь

Д.б. н.



Коломбет Л.В