

ОТЗЫВ

по автореферату диссертационной работы РАЗО ШИАТЕСА на тему: «Разработка новых систем иммунохроматографической диагностики фитопатогенов на основе закономерностей формирования комплексов антител наночастиц», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности:

4.1.3 Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

1.5.6 Биотехнология

Диссертационная работа Разо Шиатеса посвящена разработке новых иммунохроматографических систем для детекции фитопатогенов в низких концентрациях.

Актуальность проведенной научной работы состоит в том, что автором определена приоритетная задача в борьбе с экономически значимыми фитопатогенами которая заключается в массовой диагностике, с использованием иммунохроматографических тест-систем обладающих высокой специфичностью и чувствительностью, применяемых как в лабораторных так и во внелабораторных условиях.

Научная новизна исследований состоит в том, что впервые определены условия, при которых формируются комплексы конъюгатов наночастиц золота и магнитных наночастиц вызывающих снижение предела обнаружения, разработана иммунохроматографическая система для детекции *Ralstonia solanacearum*, разработана высокочувствительная иммунохроматографическая система для детекции *Erwinia amylovora* с использованием в качестве метки биметаллических наночастиц (Au-Pt).

Автореферат достаточно полно отражает суть проведенных исследований, доведенных до практического применения. Представленные в работе заключение обоснованы и вытекают из результатов проведенных исследований.

Работа прошла достаточно широкую апробацию на научно-практических конференциях. Основные результаты исследований опубликованы в 17 работах, из них 4 статьи в научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 2 в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК и 11 тезисов конференций.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация Разо Шиатеса полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II (кандидатская) Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № 12 от 23.09.2019 г., а ее автор, Разо Шиатеса, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений, 1.5.6. Биотехнология.

Кандидат сельскохозяйственных наук
по специальности 06.01.02 – Мелиорация,
рекультивация и охрана земель, зам.
директора по научной работе и
инновационному развитию
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Всероссийский
научно-исследовательский институт
орошаемого земледелия»

Новиков Алексей Андреевич

Кандидат сельскохозяйственных наук
по специальности 06.01.02 – Мелиорация,
рекультивация и охрана земель,
старший научный сотрудник
отдела оросительных мелиораций
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Всероссийский
научно-исследовательский институт
орошаемого земледелия»

Гиченкова Ольга Геннадьевна

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Всероссийский
научно-исследовательский институт
орошаемого земледелия» (ФГБНУ ВНИИОЗ)
400002 г. Волгоград, ул. Тимирязева, 9
Тел. (8442) 60-24-33, E-mail: vniiioz@yandex.ru

Подпись Новикова Алексея Андреевича
и Гиченовой Ольги Геннадьевны
заверяю: Учёный секретарь ФГБНУ ВНИИОЗ
к.с.-х.н.



Комарова Ольга Петровна

14.11.2022 г.

Отзыв

на автореферат диссертационной работы РАЗО ШИАТЕСА «Разработка новых систем иммунохроматографической диагностики фитопатогенов на основе закономерностей формирования комплексов антител и наночастиц», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3. Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений, 1.5.6. Биотехнология

Актуальность исследования определяется тем, что выращивание сельскохозяйственных растений сопряжено с высокими рисками бактериального и вирусного инфицирования. Пораженность патогенами, начиная с семенного материала, значительно снижает качество получаемой продукции. Возбудители накапливаются в латентной форме в течение нескольких поколений, что вызывает серьезные потери урожая.

Одним из основных направлений защиты растений является постоянный контроль и диагностика инфекций на разных стадиях выращивания культур. В соответствии с этим приоритетная задача борьбы с экономически значимыми фитопатогенами состоит в массовой диагностике с использованием инструментов, обладающих высокой специфичностью и чувствительностью и пригодных к применению как в лабораториях, так и во внелабораторных условиях.

Имунохроматографический анализ представляет собой высокочувствительный метод определения, однако его чувствительность часто бывает недостаточной для выявления инфекций на ранних этапах заражения. В связи с этим востребовано повышение чувствительности иммунохроматографического определения фитопатогенов.

Объектами исследования выбраны экономически значимые фитопатогены различной природы - вирусной (X-вирус картофеля), Y-вирус картофеля) и бактериальной (возбудители черной ножки картофеля (*Dickeya* spp.), бактериального ожога (*Erwinia amylovora*) и бурой гнили картофеля (*Ralstonia solanacearum*). Они представляют собой приоритетные возбудители болезней растений семейства Solanaceae и Rosaceae.

Целью работы являлось создание новых иммунохроматографических систем для детекции фитопатогенов в низких концентрациях. Достижение поставленной цели включало решение нескольких задач – получение поликлональных антител, специфичных к выбранным фитопатогенам; характеристику специфичных антител; синтез и характеристику наночастиц; изучение формирования комплексов наночастиц с антителами и синтез конъюгатов антител, специфичных к фитопатогенам; разработку иммунохроматографических тест-систем для детекции фитопатогенов вирусной и бактериальной природы; апробация разработанных тест-систем.

Разо Шиатеса показала, что предварительное формирование комплексов вирусов с конъюгатом (антитела – наночастица золота) приводит к снижению предела обнаружения иммунохроматографической тест-системы в сэндвич формате. Определены условия (схема введения и соотношения конъюгатов), при которых формирование комплексов конъюгатов наночастиц золота и магнитных наночастиц вызывает снижение предела обнаружения иммунохроматографического анализа. Разработана иммунохроматографическая система для детекции *Ralstonia solanacearum*, высокая чувствительность которой обеспечивается благодаря увеличению размера маркера после формирования иммунных комплексов на тест-полоске. Разработана высокочувствительная иммунохроматографическая система для детекции *Erwinia amylovora* с использованием в качестве метки биметаллических наночастиц (Au-Pt), обладающих каталитическими пероксидазо-подобными свойствами.

Основные положения, выносимые на защиту, включают условия получения поликлональных антител, специфичных к фитопатогенам, закономерности формирования иммунных комплексов с участием конъюгатов магнитных и золотых наночастиц в условиях иммунохроматографии, способы снижения пределов обнаружения иммунохроматографических тест-систем для детекции вирусных и бактериальных фитопатогенов, условия пробоотбора для иммунохроматографического анализа, повышающие достоверность выявления фитопатогенов.

Работа выполнена успешно, поставленная цель достигнута. Автор опубликовала результаты в передовых научных журналах; 4 статьи опубликованы в научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

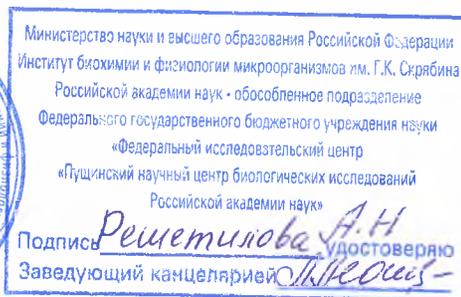
По объему и качеству проведенных экспериментов, новизне и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II (кандидатская) Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № 12 от 23.09.2019 г., а ее автор, Раза Шиатеса, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений, 1.5.6. Биотехнология.

Против включения персональных данных, содержащихся в отзыве, в документы, связанные с защитой указанной диссертации, и их дальнейшей обработки не возражаю.

Доктор химических наук (специальность 1.5.6 – Биотехнология),
профессор, ведущий научный сотрудник Лаборатории биосенсоров
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН
142290 Московская область, г. Пушкино, Проспект науки, д. 5
Тел +7-926-573-73-62
E-mail: anatol@ibpm.pushchino.ru

Решетилов Анатолий Николаевич

23.11.2022



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Разо Шиатеса «Разработка новых систем иммунохроматографической диагностики фитопатогенов на основе закономерностей формирования комплексов антител и наночастиц», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 - Агрехимия, агропчвоведение, защита и карантин растений; 1.5.6 Биотехнология

Исследования Разо Шиатеса посвящены изучению способов повышения чувствительности иммунохроматографического метода для диагностики фитопатогенов на ранних этапах заражения растений. Иммунохроматографические системы удовлетворяют требованиям защиты растений по постоянному контролю за здоровьем растений на разных стадиях их выращивания. Экономически выгодным является использование инструментов, обладающих высокой специфичностью и чувствительностью, применение которых возможно, как в лабораторных, так и в полевых условиях. Объектами исследования соискателя были фитопатогены вирусной и бактериальной природы: вирусы картофеля, возбудители черной ножки и бурой гнили картофеля, бактериального ожога.

Научная новизна заключается в том, что впервые показано, что предварительное формирование комплексов вирусов с конъюгатом (антитела-наночастица золота) приводит к снижению предела обнаружения иммунохроматографической системы тест-системы в сэндвич формате. Определены условия (схема введения и соотношения конъюгатов) при которых формирование комплексов конъюгатов наночастиц золота и магнитных частиц вызывает снижение предела обнаружения иммунохроматографического анализа.

Практическая значимость работы состоит в открывающихся широких возможностях использования, разработанных и апробированных иммунохроматографических тест-систем для детекции трех бактериальных патогенов: черной ножки картофеля, бурой гнили картофеля и бактериального ожога плодовых культур. Также разработаны и апробированы иммунохроматографические тест-системы для высокочувствительной детекции X- и Y-вирусов картофеля.

Достоверность полученных результатов подтверждается большим объемом экспериментального материала, большими объемами лабораторных исследований на современном высокоточном оборудовании.

Следует отметить отличное цветовое оформление автореферата.

В то же время возникают вопросы, не умаляющие ценности работы:

1. В работе показано, что карбоксированные магнитные наночастицы приобретены у фирмы США, для характеристики наночастиц и их конъюгатов применялся японский электронный микроскоп, динамическое светорассеяние определялось с помощью техники из Великобритании. Как

дальше продолжать работу в условиях невозможности получения материалов и техники из заграницы?

2. Какой реальный срок использования результатов работы в отечественной практике защиты растений?

Большой объем выполненной и проанализированной работы, представленный в автореферате диссертации соискателя, по актуальности, научной новизне, практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II (кандидатская) Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № 12 от 23.09.2019 г., а ее автор, Разо Шиатеса, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений, 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв подготовила: Барайщук Галина Васильевна, доктор биологических наук (научная специальность по которой защищена диссертация: 06.01.11 «Защита растений»), профессор, ФГБОУ ВО «Омский ГАУ», профессор кафедры садоводства, лесного хозяйства и защиты растений; почтовый адрес – 644008, Россия, г. Омск, ул. Институтская площадь, д.1; телефон: (3812) 65-17-45; адрес электронной почты – gv.baray schuk@omgau. org

«22» ноября 2022 г.
дата

подпись

Г.В. Барайщук
расшифровка

Собственноручную подпись
Г.В. Барайщук удостоверяю:
начальник отдела по труду и
управлению персоналом

должность

подпись

И.А. Черноусова
расшифровка



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Разо Шиатеса

«Разработка новых систем иммунохроматографической диагностики фитопатогенов на основе закономерностей формирования комплексов антител и наночастиц», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3. - Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений, 1.5.6. - Биотехнология

Оперативное получение информации об инфицировании культивируемых растений и о вызывающем заболевание патогене крайне необходимо в современной сельскохозяйственной практике. Эти данные позволяют выбрать наиболее эффективные защитные меры, минимизировать потери урожая, предотвратить распространение инфекций. К сожалению, существующая диагностическая практика предусматривает полевую оценку растений по внешней симптоматике в сочетании с достаточно трудоемким и дорогим лабораторным тестированием инструментальными иммунохимическими (иммуноферментный анализ) или молекулярно-генетическими (полимеразная цепная реакция или другие виды амплификации) методами. В результате окончательную доказательную информацию аграрии получают из централизованных специализированных лабораторий, и между отбором проб и началом действий по результатам тестирования проходит значительное время. В связи с этим диссертационное исследование Разо Шиатеса, направленное на разработку и апробацию новых экспресс тест-систем для высокочувствительного внелабораторного выявления фитопатогенов, является крайне актуальным. Возможности иммунохроматографического тестирования для диагностики «по месту требования» (point-of-care testing, ПОСТ) убедительно показаны для многих соединений, однако их широкое применение для решения агротехнических задач ограничивается недостаточной чувствительностью, что не позволяет выявлять скрытые инфекционные процессы и требует сочетания традиционной иммунохроматографии и новых амплификационных решений.

Подготовленная диссертационная работа Разо Шиатеса и ее публикации свидетельствуют об успешном решении поставленных задач. Крайне важно, что исследование охватывает все этапы разработки, характеристики и апробации тест-систем – от определения структурных и функциональных параметров используемых реагентов до сравнительного анализа особенностей тестирования разных органов и тканей растений. В исследовании удачно выбраны наиболее перспективные амплификационные подходы – комплексообразование функционализированных наночастиц, увеличение их размеров после формирования меченых иммунных комплексов, применение каталитических (нанозимных) свойств наночастиц-маркеров – и показаны их возможности применительно к экспресс-анализу различных вирусных и бактериальных фитопатогенов. Достигнутые величины снижения пределов обнаружения – от 32 до 80 раз – являются

безусловным подтверждением конкурентного потенциала новых разработок, существенно расширяющих возможности агротехнического мониторинга.

Описание проведенного исследования включает убедительное обоснование поставленных задач, детальные методики проведенных экспериментов, корректное изложение и доказательную интерпретацию полученных результатов. Материалы диссертационной работы подтверждают высокую квалификацию соискателя – как в области биотехнологии, так и по вопросам защиты растений. По результатам исследования опубликовано шесть статей, в том числе четыре – в ведущих международных журналах – *Analytica Chimica Acta*, *Sensors* (2 работы), *Physiological and Molecular Plant Pathology*.

Работа «Разработка новых систем иммунохроматографической диагностики фитопатогенов на основе закономерностей формирования комплексов антител и наночастиц соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II (кандидатская) Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № 12 от 23.09.2019 г., а ее автор, Разо Шиатеса, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 4.1.3. - Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений, 1.5.6. - Биотехнология.

Кандидат хим. наук,
доцент

28 ноября 2022 г.

Осипов Александр Павлович

Осипов Александр Павлович

Место работы: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ имени М.В.Ломоносова или МГУ), Химический факультет, кафедра Химической энзимологии.

Адрес: Москва 119991 Ленинские Горы, д. 1, стр.11,

Должность - доцент, тел. 8-495- 939-34-30; E-mail: APOsipov@mail.ru
кандидат химических наук, код специальности ВАК - 02.00.15 (Кинетика и катализ)

