



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32
www.fbras.ru, info@fbras.ru

03 СЕН 2026

№ 85-01-19/997

На №

от

Г

Г «УТВЕРЖДАЮ» Г

Директор Федерального
государственного учреждения
«Федеральный исследовательский
центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской
академии наук,
доктор биологических наук

Федоров А.Н.
2026 г.



ведущей организации на диссертацию **Панамарева Никиты Сергеевича**
«Биолюминесцентный иммуноанализ белка сурвивина в моче при диагностике
рака мочевого пузыря», представленную на соискание учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы исследования

Развитие знаний о молекулярных основах патологических процессов приводит к расширению числа биомаркеров – компонентов биопроб, изменение содержания которых свидетельствует о развитии того или иного заболевания и может использоваться для его своевременной диагностики и оценки тяжести протекания. При этом в ряде случаев информативными биомаркерами являются вещества, характеризующиеся крайне низкими концентрациями в органах и тканях – вплоть до пикограммового диапазона. Данная ситуация обуславливает востребованность методического перевооружения средств клинической лабораторной диагностики, поиска новых решений, интегрирующих технологизированные подходы с обеспечением низких пределов обнаружения. Применительно к иммунохимическим методам анализа, активно применяемым в настоящее время для контроля широкого ряда соединений, таким эффективным инструментарием представляется замена доминирующих колориметрических методов регистрации активности ферментов-маркеров люминометрическими. Однако при наличии убедительных свидетельств возможности высокочувствительных люминометрических измерений, прежде всего с использованием в качестве ферментных маркеров люцифераз, эти результаты не подкреплены комплексом решений по созданию и обеспечению эффективности диагностических комплектов, включая отобранные и адаптированные иммунореагенты и межмолекулярные конъюгаты.

В данном контексте диссертационная работа Н.С. Панамарева, посвященная разработке и характеристике биолюминесцентного иммуноферментного анализа сурвивина, представляется крайне актуальной. Сурвивин является информативным

биомаркером рака мочевого пузыря, а для принятия диагностически значимых решений необходим контроль его содержания в концентрациях от нескольких до нескольких десятков пикограммов на миллилитр, то есть с существенно более высокой чувствительностью по сравнению с возможностями традиционных колориметрических иммуноферментных систем.

Подготовленная Н.С. Панамаревым диссертация и его публикации по теме работы свидетельствуют об успешном достижении поставленной цели.

Структура и содержание работы.

Диссертационная работа изложена на 120 страницах и включает 43 рисунка и 9 таблиц. Работа состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы (137 источников).

Во введении рассматривается диагностическая значимость контроля уровня сурвивина и ограничения существующих методов. Дается характеристика биоломинесцентных систем как потенциальных компонентов высокочувствительных диагностикумов. Формулируются цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, дается оценка научной новизны и практической значимости работы, приводятся сведения о ее представлении, финансовой поддержке, публикациях, соответствии паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология.

В литературном обзоре дается структурная и функциональная характеристика сурвивина, рассматриваются возможности его использования в качестве диагностического маркера онкологических заболеваний, описываются существующие методы выявления и оценки содержания сурвивина в биопробах. Вторую часть обзора литературы формируют данные о биоломинесцентных системах люциферазного и фотопротеинового типа, свойствах различных люцифераз, акворинов и обелинов, примерах их биоаналитического применения. Подготовленный текст основан на собранном и проанализированном литературном материале, отражая современный уровень исследований и разработок. Качество изложения материала свидетельствует о высокой квалификации диссертанта в области биотехнологии. Представленный анализ литературы позволяет убедительно обосновать выбор решаемых задач и используемых методов, доказательно оценить новизну и значимость получаемых результатов.

В разделе «Материалы и методы» подробно описаны методики проведенных экспериментов и процедуры обработки результатов. Изложены процедуры получения генетических конструкций, трансформации компетентных клеток, выделения плазмидной ДНК, наработки биомассы, выделения и очистки рекомбинантных белков, реализация различных форматов иммуноферментного анализа, апробация разработанных аналитических систем, статистическая обработка получаемых данных. Выбранные методики логично следуют из цели и задач исследования. В целом перечень методик, освоенных Н.С. Панамаревым, отражает его хорошую экспериментальную квалификацию.

В третьей главе представлены и обсуждены экспериментальные результаты, полученные диссертантом. Получены биоломинесцентные репортеры на основе рекомбинантных целентеразин-зависимых люцифераз, а также рекомбинантного сурвивина, подтверждены их гомогенность и функциональность. Реализованы

конкурентные и сэндвич-форматы микропланшетного ИФА с люминесцентной детекцией, определены их аналитические параметры. Выбран наиболее эффективный высокочувствительный формат, апробированный с использованием модельных и клинических образцов мочи. Проведена оценка диагностической и прогностической информативности уровня сурвивина в моче при онкологии мочевого пузыря. Показана эффективность одновременного контроля в моче двух онкомаркеров – сурвивина и CYFRA 21-1 – для выявления ранних стадий заболевания.

Обоснованность и достоверность выводов.

Представленные в диссертации эксперименты корректно спланированы и реализованы. Достоверность полученных результатов подтверждается их воспроизводимостью, охарактеризованной общепринятыми статистическими методами. Предлагаемые интерпретации в полной мере учитывают существующие концепции. Таким образом, обоснованность и достоверность сформулированных в диссертации положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнения.

Научная новизна работы

Диссертантом получены и охарактеризованы оригинальные рекомбинантные препараты для новых иммунодиагностических систем с люминесцентной детекцией. Сопоставлены характеристики различных форматов биолюминесцентного иммуноанализа сурвивина, определены условия их наиболее эффективной реализации. Разработан высокочувствительный иммуноанализ сурвивина в моче на основе люциферазы NanoLuc. Показано, что результаты применения данного анализа хорошо коррелируют с диагнозом рака мочевого пузыря, установленным клиническими сертифицированными методами. Определен пороговый уровень сурвивина для диагностических выводов. Показано, что повышенное содержание сурвивина в моче позволяет стратифицировать больных в отношении неблагоприятных факторов течения болезни.

Практическая значимость полученных результатов.

Разработан высокопроизводительный способ выявления сурвивина для быстрой неинвазивной диагностики, показаны его преимущества по сравнению с традиционными методами, возможности диагностировать онкологические заболевания мочевого пузыря, осуществлять мониторинг лечения, выявлять рецидивы. Определены методики изготовления компонентов иммуноаналитической системы, обеспечивающие возможность их длительного хранения без изменения функциональных свойств.

Результаты и выводы диссертации могут быть рекомендованы к использованию в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Сколковском институте науки и технологий, ГНЦ Институте биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Институте молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Первом Московском государственном медицинском университете имени И.М. Сеченова, Российском национальном исследовательском медицинском университете имени Н.И. Пирогова, Национальном медицинском исследовательском центре онкологии имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, НИИ урологии и интервенционной радиологии имени Н.А. Лопаткина, Санкт-Петербургском государственном медицинском университете имени академика И.П. Павлова, Институте экспериментальной медицины (Санкт-Петербург), Национальном

медицинском исследовательском центре онкологии имени Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург), Федеральном исследовательском центре фундаментальной и трансляционной медицины (Новосибирск), Томском национальном исследовательском медицинском центре РАН.

Замечания.

При ознакомлении с диссертацией возникли некоторые вопросы и замечания.

1. На основании установленных пределов обнаружения для конкурентной и сэндвич схем ИФА с использованием обелина делается обоснованный вывод об их недостаточной чувствительности для контроля диагностически значимых концентраций сурвивина. Однако остается открытым вопрос о природе этого ограничения: обусловлено ли оно свойствами иммунореагентов или же обелин как маркер в микропланшетном ИФА не может обеспечить детекцию белковых антигенов в концентрациях порядка 10 пг/мл?

2. При характеристике полученных реагентов используется величина «константа спада биолуминесцентного сигнала», однако ее определение не дается, указывается лишь использование экспоненциальной аппроксимации. Это затрудняет сопоставление с широко используемыми величинами времени двукратного снижения сигнала ($t_{1/2}$).

3. Из текста диссертации остается неясной методика расчета процента включения обелина в конъюгат с антителами (стр. 70). Полезной оценкой при характеристике конъюгата антител с обелином представляется его сопоставление по каталитической активности с исходным препаратом обелина – в пересчете как на моль обелина в составе конъюгата, так и на моль конъюгата. Аналогичная оценка была бы информативна и применительно к конъюгату антител с люциферазой (стр. 73).

4. Основываясь на достигнутых аналитических характеристиках, диссертант рекомендует внедрение разработанного биолуминесцентного иммуноанализа в клиническую практику. Для усиления аргументации этих рекомендаций было бы полезно сопоставить предлагаемый формат анализа с доминирующими на сегодняшний день подходами, обеспеченными как приборной базой, так и аналитическими наборами для многих аналитов – ИФА с пероксидазой в качестве маркера и фотометрической либо люминесцентной регистрацией продуктов каталитической реакции.

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Они носят частный и дискуссионный характер, не затрагивают существа положений, выносимых на защиту, и не снижают общую положительную оценку работы.

Заключение.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в пяти статьях в научных журналах, рекомендованных ВАК, а также представлены на четырех профильных научных мероприятиях. Кроме того, на основании результатов исследования подготовлена заявка и получен патент РФ на изобретение. Публикации и автореферат в полной мере отражают проведенную работу, представляют ее результаты и выводы. Исследование соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология (пп. 7, 22).

Знакомство с диссертацией, авторефератом и публикациями подтверждает, что Н.С. Панамаревым выполнена законченная научно-квалификационная работа высокого

теоретического и экспериментального уровня, характеризующаяся актуальностью поставленных задач, научной новизной и практической значимостью результатов. В диссертации Н.С. Панамарева содержится **решение научной задачи**, имеющей значение для развития биотехнологии: разработана и охарактеризована высокочувствительная система для контроля уровня онкомаркера сурвивина, основанная на реализации оригинальных подходов биолюминесцентного иммуноанализа. Диссертационная работа «Биолюминесцентный иммуноанализ белка сурвивина в моче при диагностике рака мочевого пузыря» в полной мере **соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 Положения о присуждении ученых степеней**, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения учёных степеней» (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор, Никита Сергеевич Панамарев, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном семинаре лабораторий иммунобиохимии и молекулярных основ биотрансформаций Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (протокол № 10 от 01 сентября 2026 г.), основное направление научно-исследовательской деятельности которых соответствует тематике диссертации.

ОТЗЫВ СОСТАВИЛ:

Доктор химических наук, профессор,
руководитель отдела лиганд-рецепторных взаимодействий и биосенсорики,
заведующий лабораторией иммунобиохимии Федерального государственного
учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук»

« 3 » 09 2026 г.



Борис Борисович Дзантиев

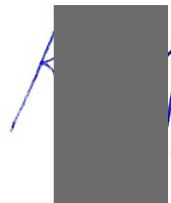
119071, Москва, Россия, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.

Телефон: (495)954-31-42. Адрес электронной почты: dzantiev@inbi.ras.ru

Подпись Б.Б. Дзантиева удостоверяю

Ученый секретарь ФИЦ Биотехнологии РАН,
кандидат биологических наук

« 3 » 09 2026 г.



А.Ф. Орловский

Данные об организации:

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»

119071, Москва, Россия, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.

Телефон: (495)954-52-83, факс (495)954-27-32.

Адрес электронной почты: info@fbras.ru