

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Ивана Ивановича Воробьева «Методы функциональной экспрессии генов, кодирующих фармацевтически значимые гликопротеины», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Специальность рецензента – молекулярная биология 03.01.03

В диссертации И.И. Воробьева рассмотрены подходы к получению линий клеток млекопитающих, секретирующие максимально возможные количества терапевтически значимых белков различных классов, при помощи специализированных плазмидных векторов, а также способы получения искусственных гликопротеинов методом химического синтеза.

### **Актуальность темы исследования.**

Тема исследований автора весьма актуальна для современной биохимии и представляет большой практический интерес. Работа посвящена созданию и применению специализированных векторных плазмид, которые позволяют максимизировать удельную продуктивность культивируемых клеток СНО при экспрессии генов белков различных классов.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов.**

Для системы экспрессии фактора свертывания крови VIII обнаружено, что эффективность использования некодирующих участков гена eEF1A1 для создания линий-продуцентов существенно увеличивается увеличена при введении в состав векторной плазмиды фрагмента конкатемера длинного концевого повтора вируса Эпштейна-Барр (EBV-TR). Для фактора IX свертывания крови было продемонстрировано, что векторные плазмиды, содержащие одинаковые некодирующие участки гена eEF1A1 и элемент EBV-TR, но различные селекционные маркеры, могут быть успешно интегрированы в геном клеток при последовательных раундах трансфекции и селекции. В клональных линиях-продуцентах фактора IX была успешно проведена ко-экспрессия двух вспомогательных генов – фурина человека и витамин-К-оксиредуктазы китайского хомячка, что позволило вести биосинтез практически полностью биологического активного фактора IX. Полученный препарат биоаналогового фактора IX успешно прошел доклинические испытания. В работе также показано, что разработанные векторные плазмиды позволяют вести координированную экспрессию двух различных генов при их соединении в полицистронную матрицу при помощи внутреннего сайта связывания рибосом. На примере фолликулостимулирующего гормона человека (ФСГ) показано, что проведение трансфекции дополнительной генетической конструкции, кодирующей только одну цепь ФСГ, в клетки, экспрессирующие гены ФСГ с трицистронной матрицы, можно получить клональные продуценты, секретирующие преимущественно гетеродимер ФСГ и только небольшие количества свободной альфа-цепи данного гликопротеина при конечной концентрации целевого белка около 80 мг/л культуры, что также значительно превосходит выход белка в все ранее описанных системах. Полученный при помощи созданной клональной линии-продуцента биоаналоговый ФСГ успешно прошел доклинические и

клинические испытания в РФ (фаза I и фаза III) и на момент написания настоящего отзыва был зарегистрирован в РФ для клинического применения. В работе впервые описывается получение конъюгата оксинтомодулина человека и полисиаловой кислоты, продемонстрировавшего пролонгированный анорексигенный эффект в опытах *in vivo*

### **Научная и практическая значимость.**

Результаты данной работы способствуют более глубокому пониманию процессов биосинтеза и секреции гликопротеинов различных классов гетерологичными клетками и принципов создания конъюгатов полипептидов с полисиаловой кислотой. Полученные результаты могут быть использованы для создания линий-продуцентов различных фармацевтически значимых белков, пролонгированных вариантов белков и полипептидов

### **Замечания по тексту автореферата.**

У меня нет замечаний по тексту и иллюстрациям автореферата.

### **Публикации.**

Содержание диссертационной работы представлено в 17 научных статьях, опубликованных в ведущих международных рецензируемых научных журналах, а также отечественных научных журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных исследований. Индекс Хирша автора диссертации составляет 9 по данным Scopus, общее число цитирований – 393. В автореферате также приведены 10 патентов РФ, выданных на изобретения, описанные в тексте диссертации.

В диссертационной работе И.И. Воробьева «Методы функциональной экспрессии генов, кодирующих фармацевтически значимые гликопротеины» изложены новые научно обоснованные технологические решения, внедрение которых в фармацевтическую промышленность внесет значительный вклад в развитие страны. По своему содержанию, уровню проведенных исследований, актуальности выбранной темы, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности полученных результатов, их научной и практической значимости диссертационная работа И.И. Воробьева в полной мере соответствует положениям Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года N 842 «О порядке присуждения ученых степеней» в редакции (ред. от 01.10.2018), а ее автор, Иван Иванович Воробьев, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

А.А. Аграновский

11 октября 2019 г.

Доктор биологических наук, профессор  
Заведующий сектором молекулярной вирусологии  
Каф. вирусологии  
Биологический факультет Московского государственного университета  
им.М.В.Ломоносова  
119234 Москва, Ленинские горы д. 1, стр.12



Подпись руки Аграновского АА

Специалист по кадрам  
Биологического факультета МГУ

И.И. Воробьева (р.п.)  
18.10.2019