

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 – биофизика 03.01.02

В диссертации И.И. Воробьева описаны способы получения линий клеток млекопитающих, трансфицированных плазмидами на основе специализированных векторов и секретирующих терапевтически значимые белков различных классов в значительных количествах, а также приведены способы получения искусственных гликопротеинов методом химического синтеза.

Актуальность темы исследования.

Тема исследований автора актуальна для современной биохимии и представляет значительный практический интерес. Создание и применение специализированных векторных плазмид действительно позволяет максимизировать удельную продуктивность культивируемых клеток СНО при экспрессии генов белков различных классов, при этом на настоящий момент не описан какой-то универсальный плазмидный вектор, позволяющий экспрессировать гены белков различных структурных классов на том уровне, который соответствовал бы физиологическим возможностям клеток СНО.

Научная новизна исследования и полученных результатов.

Для системы экспрессии фактора свертывания крови VIII было впервые обнаружено, что эффективность использования некодирующих участков гена eEF1A1 для создания линий-продуцентов существенно увеличивается при введении в состав векторной плазмиды фрагмента конкатемера длинного концевой повтора вируса Эпштейна-Барр (EBV-TR). Для фактора IX - 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. Также было показано, что разработанные в ходе представленного исследования векторные плазмиды позволяют вести координированную экспрессию двух различных генов при их соединении в полицистронную матрицу при помощи внутреннего сайта связывания рибосом.

В случае фолликулостимулирующего гормона человека (ФСГ) автор продемонстрировал, 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 сильно превосходит мировой уровень. Полученный биоаналоговый лекарственный препарат ФСГ был зарегистрирован в РФ, что вполне доказывает корректность его биологических свойств. Также впервые был получен конъюгат оксинтомодулина человека и полисиаловой кислоты, продемонстрировавший пролонгированный анорексигенный эффект в опытах *in vivo*

Научная и практическая значимость.

Полученные 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 сколько-нибудь существенных замечаний по тексту и иллюстрациям автореферата диссертации.

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, это достаточная цифра для доктора наук по специальности Биохимия.

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».

Ф.И. Атауллаханов

14 октября 2019 г.

Доктор биологических наук, профессор, член-корр. РАН
Научный руководитель Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук (ЦТП ФХФ РАН)
119991 Москва, ул. Косыгина 4

ПОДПИСЬ Атауллаханова
У ДОВОЕРЯЮ
УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
ЦТП ФХФ РАН КОЛЬЦОВА Е.М.

