

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 01.03.2019 г. № 7

о присуждении Морозову Антону Николаевичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка технологии перфузионного культивирования клеток *СНО* для получения моноклональных антител к иммуноглобулину Е» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 24.12.2018 г., протокол № 20 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании №714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Морозов Антон Николаевич 1983 г. рождения, в 2005 г. окончил Московский государственный университет инженерной экологии по специальности «Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов», с 2010 г. работает в Обществе с ограниченной ответственностью «Международный Биотехнологический Центр «Генериум», начальник отдела. Морозов Антон Николаевич в 2005 г. поступил в аспирантуру Московского государственного университета инженерной экологии, окончил аспирантуру в 2008 г.

Диссертация выполнена в отделе разработки процессов ООО «МБЦ «Генериум».

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор Хамитов Равиль Авгатович, ООО «МБЦ «Генериум», генеральный директор.

Официальные оппоненты:

Юрков Сергей Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, главный научный сотрудник,

Матвеева Ирина Николаевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Федерального агентства научных организаций, отдел молекулярной биологии и вирусологии, заведующая

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Каплуном Александром Петровичем, доктором химических наук, профессором, кафедра биотехнологии и промышленной фармации, профессор кафедры, указала, что диссертация Морозова Антона Николаевича «Разработка технологии перфузионного культивирования клеток *CHO* для получения моноклональных антител к иммуноглобулину Е» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи по созданию технологии непрерывного суспензионного культивирования клеток *CHO*, продуцирующих биоаналог моноклонального антитела *омализумаб*, и масштабирование этой технологии до опытно-промышленного уровня, и соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской

Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Ее автор, Морозов А.Н., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет **6** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **6** работ, в том числе в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки РФ – **3** статьи, и **1** работа, опубликованная в материалах международного конгресса, получен **1** патент Российской Федерации на изобретение. Авторский вклад в опубликованных работах составляет **75 %**, объем работ – **4,2 п. л.**

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Морозов, А.Н.** Оптимизация ускорения перфузии – ключевой этап разработки высокопроизводительного перфузионного культивирования клеток СНО / **А.Н. Морозов**, З.В. Захаров, Р.А. Кочелабов, Д.В. Тюпа, А.В. Исеркапов, Р.И. Фарсиева, М.А. Смоллов // **Биотехнология**. - 2016. - Т. 32, № 4. - С. 60-67. **Scopus, ИФ РИНЦ=0,349.**

2. **Морозов, А.Н.** Влияние способа культивирования клеток СНО на уровень кислых изоформ моноклонального антитела, потенциального биоаналога омализумаба / **А.Н. Морозов**, З.В. Захаров, Д.В. Тюпа, Р.А. Кочелабов, И.М. Емельянов, Р.И. Фарсиева, М.Б. Искакова // **Биофармацевтический журнал**. - 2017. - Т. 9, № 5. - С. 11-16. **Scopus, ИФ РИНЦ=0,284.**

3. Тюпа, Д. В. Влияние экстремальных концентраций растворённого CO₂ на рост и метаболические характеристики клеток СНО в периодических и непрерывных процессах / Д. В. Тюпа, **А. Н. Морозов**, З. В. Захаров, С. В. Калёнов, Р. А. Кочелабов, И. М. Емельянов // **Бутлеровские сообщения**. - 2017. - №5. Т. 50. - С. 126-133. **ИФ РИНЦ=0,428.**

4. **Пат. 2672318 РФ.** Способ получения моноклональных антител терапевтического назначения с помощью непрерывного культивирования клеток СНО / **Морозов А.Н.**, Захаров З.В., Тюпа Д.В., Кочелабов Р.А.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью

«Международный Биотехнологический Центр «Генериум». – N 2017132524; заявл. 19.09.2017; Оpubл. 13.11.2018, Бюл. N 32.

На диссертацию и автореферат поступили 5 положительных отзывов от: (1) д-ра мед. наук, профессора **Борисевича Игоря Владимировича**, директора Центра планирования и координации научно-исследовательских работ ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава РФ, г. Москва – без замечаний; (2) д-ра биол. наук, профессора **Луценко Сергея Викторовича**, заведующего кафедрой биотехнологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, г. Москва – без замечаний; (3) д-ра биол. наук **Шмарова Максима Михайловича**, заведующего лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, г. Москва - без замечаний; (4) канд. техн. наук **Герман Людмилы Сергеевны**, главного технолога ООО «Бигорбиотехнолоджис», г. Москва – содержит замечание: «Некоторые предложения трудны для понимания и содержат англазированные слова, которые можно было бы заменить специализированными терминами»; (5) д-ра мед. наук **Микшис Натальи Ивановны**, ведущего научного сотрудника отдела иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов – без замечаний.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор биологических наук, профессор **Юрков Сергей Григорьевич** является компетентным специалистом в сфере биотехнологии, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Морозова А.Н. (С.х. биол. - 2017. - Т. 52. № 6. - С. 1265-1272; **Вет. Врач. - 2017. - № 1. - С. 22-26; Ветеринария. - 2017. - № 8. - С. 54-57; - 2016. - № 11. - С. 58-61; 2015. - № 10. - С. 53-57; 2015. - № 3. - С. 57-59; **Вопр. Вирусол. - 2015. - Т. 60. № 2. - С. 41-43; Вет. Врач. - 2015. - № 1. - С. 3-7; 2014. - № 4. - С. 3-7; С.х. Биол. - 2014. - Т. 49. № 4. - С. 58-63;**); доктор биологических наук, профессор, Лауреат Премии Правительства РФ в области науки и техники **Матвеева Ирина Николаевна** является признанным специалистом в области молекулярной микробиологии и биотехнологии и имеет научные публикации в сфере**

исследований, соответствующей кандидатской диссертации Морозова А.Н. (**Таврич. Вестн. Аграр. Науки.** - 2017. - № 2 (10). - С. 17-28; **Технол. Живых Сист.** - 2016. - Т. 13. № 1. - С. 83-86; 2016. - Т. 13. № 3. - С. 61-65; **Вестн. Рос. С.х. Науки.** - 2016. - № 1. - С. 55-58; 2014. - № 4. - С. 53-54; **Вестн. Курской Гос. С.х. Акад.** - 2015. - № 6. - С. 64-65; **Ветер. Зоотех. Биотехнол.** - 2015. - № 7. - С. 46-48; **Ветер. Кормление.** - 2014. - № 6. - С. 32-34).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области разработки методов синтеза, анализа и технологий получения новых биологически активных соединений и различных лекарственных форм на их основе, а также наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Морозова А.Н. (**Prot. Express. Purific.** - 2018. - V.143. – P.77-82; **Russ. J. Biopharm.** – 2018. - Vol.10, №1. - P.14-25; **Биомед. Хим.** – 2018. - Т.64, Вып. 3. - С.257-260; **Биотехнол.** - 2018. - Т.34, №1. - С.73-80; 2015. - № 1. - С.49-60; **Мед. Вирусол.** – 2014. – Т.28 (1). - С.37-58; **Вопр. Биол. Мед. Фарм. Хим.** – 2014. - №6. - С.47-52; 2014. - №10. - С.3-21; **Бюлл. Эксп. Биол. Мед.** - 2014. - Т.157. - С.712-717).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработано новое решение задачи получения моноклонального антитела *омализумаб* путём использования непрерывного суспензионного культивирования клеток *СНО* с внешним перфузионным устройством, взамен периодического культивирования, используемого производителем референтного препарата;

предложена новая стратегия управления скоростью потока питательной среды, в зависимости от фазы клеточного роста, обеспечивающая наибольшую продуктивность культуры клеток *СНО*, а также позволяющая получать целевое антитело с требуемым содержанием кислых изоформ;

доказано, что режим непрерывного отбора клеточной суспензии со скоростью $0,1 \text{ сут}^{-1}$ позволяет стабилизировать рост культуры *СНО* и выход белка *омализумаб* в стационарной фазе процесса культивирования;

введено новое понятие *ускорения перфузии*, являющееся более адекватным, чем удельная скорость перфузии, в рамках подхода к оптимизации начального этапа перфузионного культивирования.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что режим протока питательной среды на начальном этапе перфузии оказывает существенное влияние на поведение клеток *CHO* в стационарной фазе процесса, затрагивая как качество экспрессируемого белка *омализумаб*, так и экономические характеристики культивирования;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе методы периодического и непрерывного культивирования культур клеток, хроматографические методы очистки белковых молекул, физико-химические методы анализа биопрепаратов, методы оценки рисков, а также методы статистической обработки данных;

изложены условия газовой стратегии в пилотном биореакторе, соблюдение которых позволяет избежать негативного влияния накопления растворённого углекислого газа на культуру клеток *CHO*;

раскрыто отсутствие общепринятого эффективного подхода к оптимизации начального этапа перфузионного культивирования клеток млекопитающих;

изучены связи между параметрами процесса перфузионного культивирования и критическими показателями качества белка *омализумаб*, автор диссертационного исследования провёл оценку критичности параметров процесса культивирования с точки зрения влияния на наиболее важные показатели качества целевого белка;

проведена модернизация биотехнологических процедур, применяемых при переходе от периодического к непрерывному культивированию культур клеток млекопитающих с сохранением критических параметров качества экспрессируемого белка (**Пат. 2672318 РФ. «Способ получения моноклональных антител терапевтического назначения с помощью непрерывного культивирования клеток *CHO*»**, 2018 г.).

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан и внедрён в производственный процесс АО «ГЕНЕРИУМ» опытно-промышленный регламент ОПР №89761464-47-16 на производство фармацевтической субстанции моноклонального антитела GNR044, потенциального биоаналога омализумаба (Акт о внедрении результатов научных исследований от 01.02.2019 г.) – учрежденческий уровень внедрения;

определены перспективы для разработки и масштабирования технологий перфузионного культивирования культур клеток млекопитающих, экспрессирующих рекомбинантные белки терапевтического назначения;

создана модель эффективного применения концепции “Quality by Design” для разработки технологии производства биоаналогичного лекарственного средства;

представлена методология исследования для разработки высокопродуктивных технологий производства биотехнологических лекарственных средств как медицинского, так и ветеринарного применения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты получены на сертифицированном оборудовании, воспроизводимость результатов проверена в различных условиях с необходимым количеством повторов;

идея диссертационного исследования о стабилизации ростовых и продукционных характеристик клеточной культуры в результате отбора суспензии клеток базируется на анализе данных специалистов-практиков и ученых, обобщении передового опыта по созданию технологий непрерывного культивирования продуцентов рекомбинантных белков терапевтического назначения;

установлено частичное совпадение полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными зарубежных авторов – в части влияния концентрации растворённого углекислого газа на рост и метаболизм клеточных культур на различных этапах процесса культивирования;

использованы современные методы получения и обработки информации в рамках систем сбора, обработки, отображения и архивирования данных

био процессов (SCADA-системы), таких как BioPAT MFCS (Sartorius Stedim) и BioXpert (Applikon Biotechnology).

Личный вклад соискателя состоит в:

проведении автором лично следующих этапов работы - анализ научной литературы, оценка критичности показателей качества целевого белка, а также обоснование и уточнение целевого профиля препарата для разработки культивирования, выбор состава питательной среды и оптимизация режима протока среды в начальной стадии процесса культивирования, обоснование скорости отбора клеточной суспензии для стабилизации ростовых характеристик клеток продуцента и продления эффективного продукционного периода, оптимизация параметров процесса культивирования для достижения целевого профиля изоформ с различным зарядом. При непосредственном участии автора проведены установочный лабораторный процесс культивирования и масштабирование технологии до пилотного уровня, сравнение двух перфузионных систем – лабораторной и полупромышленной.

На заседании 01.03.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Морозову А.Н. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 21 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 16 против 1, недействительных бюллетеней нет.

Председатель
диссертационного совета _____ (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета _____ (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 01.03.2019 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.

