

В диссертационный совет 64.1.002.01 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Тимоновой Софьи Сергеевны тему «СОЗДАНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ АКТИВНЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ АРИЛСУЛЬФАТАЗУ В И ИДУРОНАТ-2-СУЛЬФАТАЗУ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

В настоящее время биотехнологический комплекс является важнейшей составляющей национальной экономики России и от его дальнейшего развития зависит развитие и благосостояние страны. Создание биофармацевтических препаратов требует уникального дорогостоящего оборудования и нестандартных подходов в решении технологических задач. Получение клонов-продуцентов – один из ключевых моментов в разработке биопрепаратов. Мукополисахаридоз (МПС) – группа орфанных генетических заболеваний, вызванных отсутствием или неправильным функционированием лизосомальных ферментов, необходимых для расщепления гликозаминогликанов (мукополисахаридов). Создание отечественных биофармацевтических препаратов для их терапии является актуальной и новой задачей для фарминдустрии в РФ. Именно эти задачи и решает диссертационное исследование Тимоновой С.С.

Данная диссертация посвящена актуальной проблеме создания клеток-продуцентов и разработке на их основе технологического процесса по созданию готовых медицинских препаратов. В частности, автором описаны и отработаны следующие стадии в создании биопрепарата: создание генно-инженерных конструкций, трансфекция клеток линии Chinese Hamster Ovary (CHO); получение моноклональных клеточных линий; проведение поиска высокопродуктивных клонов-продуцентов и разработка технологии их культивирования; изучение показателей роста и продуктивности клонов, а также изучение ряда показателей физико-химических свойств целевых белков.

Исходя из положений, сформулированных в автореферате, можно заключить, что структура работы выстроена последовательно и логично. Автореферат диссертации

содержит все необходимые разделы и характеризуется четкостью формулировок цели, задач и результатов. Материал изложен качественно и оформлен в соответствии с требованиями, предъявляемыми к авторефератам.

К наиболее значимым результатам диссертации, имеющим элементы научной новизны, можно отнести следующие: 1) тщательное изучение литературы и составление стратегии выполнения всех этапов работы, от создания генетических конструкций -и до разработки промышленной методики получения ферментов 2) создание стабильных и высокопродуктивных моноклональных клеточных линий-продуцентов рекомбинантных лизосомальных ферментов идуронат-2- сульфатазы и арилсульфатазы В. Автором показано, что полученные продуценты обладают способностью к росту в суспензионных в бессывороточных условиях 3) Применен прием по коэкспрессии вспомогательного белка FGE, участвующего в модификации активного центра ASB. Данный подход позволил увеличить продуктивность клеточной линии целевого фермента в 10 раз 4) Разработана воспроизводимая технология суспензионного культивирования продуцентов арилсульфатазы В и идуронат-2-сульфатазы для последующего использования в промышленном производстве. Данные положения являются не только результатами, обладающими научной новизной, но и имеющими практическое значение для развития биопроцессов для аналогичных лизосомальных белков.

Текст автореферата свидетельствует о том, что автор успешно решает поставленные задачи, а достоверность и обоснованность результатов определяется использованием аналитической и статистической информации публикуемой авторитетными организациями и изданиями как российскими, так и зарубежными.

Работа не содержит каких-либо серьезных недостатков. Из мелких недочетов в работе следует отметить следующие:

1. С.9 «В результате работы была получена панель клонов-продуцентов рекомбинантного лизосомального фермента I2S. Все клоны были криоконсервированы, и создан исследовательский клеточный банк продуцентов I2S на основе СНО. Дальнейший эксперимент проводили с лидерным клоном ST-5, который обладает высокой экспрессией и способностью образовывать высокую клеточную плотность в суспензии»

Поскольку характеристики клона-продуцента могут меняться со временем, то в подобных исследованиях более принято создавать несколько лидерных клонов, с

которыми проводят необходимые тесты. Работа с единственным клоном выглядит немного рискованно.

2. С.10 «Далее проводили оптимизацию процесса культивирования клона-продуцента идуронат-2-сульфатазы с целью подбора оптимального компонента для фидирования. Было проведено культивирование в режиме fed-batch для подбора наиболее оптимального компонента подпитки: feed 2, feed 3 или feed 4.»

Возможно, стоило подробнее уточнить, что именно представляют собой : feed 2, feed 3 или feed 4. Это коммерчески доступные «подпитки» или самостоятельно приготовленные смеси питательных веществ?

3. С. 19. «Статистически значимого снижения продуктивности выявлено не было (рис. 10-С, D).»

Линии тренда на рисунках 10-А и 10-В, тем не менее, все же указывают на небольшое падение продуктивности. Возможно, автору следовало указать на то, что результат зависел от того, каким способом обрабатывать полученные данные: путем построения простой линии регрессии или путем применения непарного t-критерия.

Несмотря на эти незначительные замечания, считаем, что работа Тимоновой С.С. соответствует уровню кандидатской диссертации и обладает несомненной теоретической и практической значимостью. По теме работы получен патент на изобретение и опубликовано достаточное количество работ, в том числе три статьи - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. В целом автореферат позволяет сделать вывод о том, что диссертация Тимоновой С.С. на тему «СОЗДАНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ АКТИВНЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ АРИЛСУЛЬФАТАЗУ В ИДУРОНАТ-2-СУЛЬФАТАЗУ» выполнена на достаточно высоком научном уровне, представляет собой самостоятельное завершённое исследование, отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к диссертационным исследованиям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Тимонова Софья Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. «Биотехнология».

Ведущий научный сотрудник научного отдела

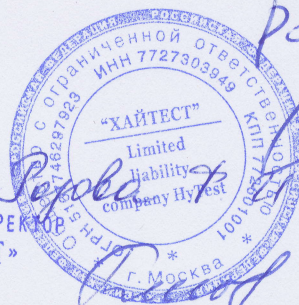
ООО «Хайтест Россия»

Кандидат биологических наук

Розов Федор Николаевич

e-mail: Fedor.Rozov@hytest.ru
Варшавское ш., 28А, Москва, 117105

Людмила Сергеевна
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО «ХАЙТЕСТ»
Ю. В. БЕЛУСОВА



уверено