

Отзыв
на автореферат диссертации Тимоновой Софьи Сергеевны «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

Актуальность. Мукополисахаридоз – генетическое орфанные заболевание, в результате которого наблюдается нарушение функционирования лизосомальных ферментов, необходимых для расщепления гликозаминогликанов. К настоящему моменту различают семь типов МПС, в данной диссертационной работе подборное описаны два типа МПС: II и VI. Лечение МПС II и VI типов, должно проводиться с использованием пожизненной ферментной заместительной терапии импортными препаратами «Элапраза» (США) и «Наглазим» (США), рекомбинантными лизосомальными ферментами идуронат-2-сульфатой и арилсульфатазой В соответственно. Таким образом разработка отечественных препаратов рекомбинантных идуронат-2-сульфатазы и арилсульфатазы В является очень актуальной задачей.

Научная новизна. При выполнении работы впервые в России созданы стабильные высокопродуктивные моноклональные клеточные линии–продуценты: рекомбинантного лизосомальных ферментов арилсульфатазы и идуронат–2–сульфатазы. На основе данных экспериментов по технологии способа получения клеточных линий-продуцентов рекомбинантного лизосомального фермента арилсульфатазы В выдан патент на изобретение RU2020107533А «Клетка, продуцирующая с высокой эффективностью активный белок арилсульфатазу В, и способ получения этой клетки».

Достоверность полученных результатов.

Полученные клоны-продуценты рекомбинантных лизосомальных ферментов арилсульфатазы В и идуронат–2–сульфатазы использованы в организации производства лекарственных препаратов.

Результаты работы включены в Паспорт главного банка клеток и в опытно-промышленный регламент ОПР №89761464-88-21 для производства фармацевтической субстанции на основе идуронат-2-сульфатазы.

По отработанной технологии проведена наработка серий фармацевтических субстанций биоаналогов идуронат-2-сульфатазы и арилсульфатазы В для доклинических и клинических испытаний.

Представленные эксперименты, опубликованные по диссертации статьи, выступление на конференциях, все это позволяет считать результаты диссертационного исследования достоверными.

Ход собственных исследований. В результате работы, представленных в главе 3 подобраны и обоснованы условия суспензионного культивирования для продуцентов, позволяющие получить высокий выход активного фермента IDS (около 300 мг/л), за счет подбора концентрации сульфата меди в ростовую среду, при этом, удельная активность фермента сопоставима с коммерчески доступным препаратом. Стоит отметить, что продуктивность оригинального препарата «Элапраза» составляет около 4,3 мг/л. Полученные клеточные линии-продуценты используются при производстве лекарственного препарата на основе рекомбинантной идуронат-2-сульфатазы. Результаты экспериментов опубликованы в статье.

Затем, в главе 4, автор экспериментально доказывает необходимость проведения котрансфекции клеточных линий-продуцентов арилсульфатазы В плазмидой, кодирующей вспомогательный формилглицин генерирующий фермент для достижения наибольшего выхода активного целевого фермента арилсульфатазы В. Также представлены эксперименты, подтверждающие необходимость использования сульфата меди при культивировании данных продуцентов арилсульфатазы В.

Глава 5 посвящается разработке высокопродуктивных клеточных линий арилсульфатазы В, модифицированных формилглицин генерирующим ферментом и оптимизации условий культивирования полученных высокопродуктивных клонов. Подбор условий культивирования, в данном

разделе, с добавлением в ростовую среду сульфата меди, значительно повысил продуктивность культур, в результате чего был получен клон-продуцент экспрессирующий до 420 мг/л активного фермента арилсульфатазы В. Данные эксперименты позволяют решить проблему низкого выхода белка. Полученный клон-продуцент и разработанные условия культивирования использованы для производства лекарственного препарата для ферментозаместительной терапии против мукополисахаридоза VI типа. Результаты работы отражены в опубликованных статьях и патенте.

В главе 6 представлены исследования стабильности экспрессионных и ростовых показателей клонов-продуцентов идуронат-2-сульфатазы и арилсульфатазы В. Исследуемые показатели сохраняют стабильность на протяжении 60-ти генераций, что положительно для производства рекомбинантных препаратов. Выводы, сделанные Тимоновой С.С. по диссертационной работе, совпадают с целями и задачами.

Работа полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сама автор, Тимонова С.С., по научно-практической значимости и ценности данной работы и личному вкладу, достойна присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории эпигенетики
ИОГен РАН
к.б.н.,



Суздальцева
Юлия Геннадиевна

119991, г. Москва, ГСП-1, ул. Губкина, д.3
ИОГен РАН
Тел.: (499) 135-62-13
e-mail: yu_suzdaltseva@mail.ru

05.09.2022

подпись Суздальцевой Ю.Г. заверяю
зам. директора по научной работе ИОГен РАН
к.б.н., доцент



Брускин С.А.