

УТВЕРЖДАЮ

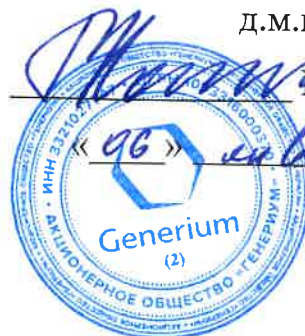
Вице–президент по исследованиям и разработкам

АО «ГЕНЕРИУМ»

Д.м.н., профессор

Р.А. Хамитов

« 06 » *сентября* 2022 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Акционерного общества «ГЕНЕРИУМ»

Диссертация «Создание высокопродуктивных моноклональных клеточных линий, экспрессирующих активные рекомбинантные лизосомальные ферменты арилсульфатазу В и идуронат–2–сульфатазу» выполнена в отделе клеточной биологии АО «ГЕНЕРИУМ».

В период подготовки диссертации соискатель Тимонова Софья Сергеевна работала в АО «ГЕНЕРИУМ», отделе клеточной биологии, в должности научного сотрудника.

В 2017 г. Тимонова С.С. окончила Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова (МИТХТ) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА - Российский технологический университет» по направлению 19.04.01 «Биотехнология», профиль образовательной программы - «Технология биофармацевтических препаратов».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2020 г. в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – к.б.н. Пискунов Александр Александрович, АО «ГЕНЕРИУМ», департамент генно-инженерных биологических препаратов, директор департамента.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертация Тимоновой С.С. является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на современном научно-методическом уровне, в которой решены практические задачи получения моноклональных клеточных линий-продуцентов арилсульфатазы В и идуронат-2-сульфатазы, потенциальных биоаналогов препаратов галсульфазы и идурсульфазы; оптимизирован состав питательной среды для повышения продуктивности культуры клеток *CHO*, экспрессирующих лизосомальные рекомбинантные ферменты арилсульфатазу В и идуронат-2-сульфатазу; проведен ряд работ повышающих удельную активность целевых ферментов; изучены производственные и ростовые характеристики полученных клеточных линий.

Поставленные перед диссертантом цели и задачи реализованы в полной мере. Автореферат отражает основное содержание работы.

Диссертационная работа Тимоновой С.С. по актуальности, новизне, научной и практической значимости полученных результатов, объему выполненных исследований, степени внедрения в практику отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым ВАК Минобрнауки России к кандидатским диссертациям.

Личный вклад. Основной объем исследований проведен соискателем самостоятельно. Автору принадлежит ведущая роль в планировании и выполнении основных экспериментов, обобщении полученных результатов. Консультативную и методическую помощь при выполнении отдельных этапов работы оказывали: к. б. н. Анисимов Р. Л., к. б. н. Кирик И.А., к. б. н. Бадэ В.Н., а также коллектив сотрудников отдела клеточной биологии АО «ГЕНЕРИУМ». Результаты проведенных исследований достоверны, получены с использованием большого объема экспериментального материала, обработаны статистическими

методами. Выводы и практические предложения обоснованы и вытекают из результатов исследований, изложенных в диссертации.

Научная новизна диссертационного исследования представлена следующими положениями:

Впервые в РФ созданы стабильные высокопродуктивные моноклональные клеточные линии–продуценты рекомбинантного лизосомального фермента арилсульфатазы В за счет коэкспрессии вспомогательного формилглицин генерирующего фермента. Полученные продуценты культивируют в суспензионных условиях без использования компонентов животного происхождения;

Впервые в РФ созданы стабильные высокопродуктивные моноклональные клеточные линии–продуценты рекомбинантного лизосомального фермента идуронат–2–сульфатазы. Полученные продуценты культивируют в суспензионных условиях без использования компонентов животного происхождения;

Разработана технология суспензионного культивирования продуцентов арилсульфатазы В и идуронат–2–сульфатазы для последующего использования в промышленном производстве;

На основании разработанного 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».

Практическая значимость результатов исследования:

Методология и подходы, связанные с созданием биофармацевтических препаратов на основе СНО, могут быть применены при разработке других биотехнологических процессов производства рекомбинантных белков медицинского назначения, в частности, к получению любых других ферментов подкласса сульфатаз.

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

заместительной терапии против МПС II и VI типов:

1. Данные, полученные в ходе исследований, включены в Паспорт главного банка клеток и в опытно-промышленный регламент ОПР №89761464-88-21 для производства фармацевтической субстанции на основе идуронат-2-сульфатазы.

2. Разработанная технология получения и культивирования продуцентов идуронат-2-сульфатазы и арилсульфатазы В, потенциальных биоаналогов препаратов «Наглазим» и «Элапраза», использована при наработке серий фармацевтических субстанций для проведения доклинических и клинических испытаний.

Апробация результатов проведенных исследований

Основные результаты исследований представлены на научных конференциях:

1. Научно-техническая конференция международного биотехнологического центра «Генериум» в 2018г, на тему «Создание клонов-продуцентов рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы для терапии мукополисахаридоза II типа (синдром Хантера)».

Научно-техническая конференция международного биотехнологического центра «Генериум» в 2021г, на тему «Разработка моноклональной клеточной линии сложноэкспрессируемого лизосомального фермента арилсульфатазы В за счет ко-экспрессии вспомогательного формилглицин генерирующего фермента».

Специальность, которой соответствует диссертация

Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология пунктам: 3. «Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения» и 9. «Технология рекомбинантных ДНК, гибридная технология. Биотехнология животных клеток, иммунная биотехнология».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. **Тимонова, С. С.** Принцип оперативного выбора лидерных клонов-продуцентов моноклональных антител при создании стабильных клеточных линий на основе СНО / С. С. Тимонова, В. И. Павелко, И. А. Кирик, В. Н. Бадэ, Т. О. Малыгина, Р. А. Хамитов, А. А. Пискунов // Биотехнология. – 2019. – Том 35. – № 4. – С. 65–72. doi: 10.21519/0234–2758–2019–35–4–65–72.
2. **Тимонова, С. С.** Оптимизация процесса культивирования клон-продуцента рекомбинантного лизосомального фермента идуронат-2-сульфатазы / С. С. Тимонова, М. С. Пантюшенко, Р. В. Тихонов, А. А. Пискунов, В. Н. Бадэ // Биотехнология. – 2021. – Том 37. – № 2. – С. 34–47. doi: 10.21519/0234–2758–2021–37–2–34–47.
3. **Тимонова, С. С.** Увеличение продуктивности клеточной линии-продуцента арилсульфатазы В за счет коэкспрессии формилглицин генерирующего фермента / С. С. Тимонова, К. А. Смолова, Д. Т. Зарипова, М. С. Пантюшенко, М. А. Королева, Р. Л. Анисимов, Р. А. Хамитов, А. А. Пискунов, В. Н. Бадэ // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2022. Том 22. – № 1. – С. 80–93. doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-1-80-93.

Патенты:

1. Патент на изобретение RU2020107533А Российская Федерация: Клетка, продуцирующая с высокой эффективностью активный белок арилсульфатазу В, и способ получения этой клетки / Пискунов А. А., Бадэ В. Н., **Тимонова С. С.** Патентообладатель АО "Генериум". заявл. 19.02.2020; опубл. 19.08.2021, Бюл. №23 – 1 с.

Кем и когда утверждена тема диссертационной работы

Диссертационная работа Тимоновой С.С. на тему: «Создание высокопродуктивных моноклональных клеточных линий, экспрессирующих активные рекомбинантные лизосомальные ферменты арилсульфатазу В и идуронат-2-сульфатазу» утверждена Научно-Техническим Советом АО «ГЕНЕРИУМ» от 28 ноября 2019 г.

Состояние первичной документации

При выполнении научных исследований Тимонова С.С. вела первичную документацию в журналах по учету научно-исследовательской работы и анализу полученных результатов исследования. Журналы прошнурованы и пронумерованы.

Рекомендации:

Диссертация «Создание высокопродуктивных моноклональных клеточных линий, экспрессирующих активные рекомбинантные лизосомальные ферменты арилсульфатазу В и идуронат-2-сульфатазу» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.6. Биотехнология.

Заключение принято на открытом межлабораторном Совете научного сектора АО «ГЕНЕРИУМ». Всего присутствовало 16 человек, из них с правом решающего голоса – 11 человек. Результаты голосования: «за» – 8 чел., против – 3, «воздержалось» - нет. НТС от 23 декабря 2021 года.

Секретарь заседания

н.с. ОКБ АО «ГЕНЕРИУМ»



Габдрахманова А.Ф.