

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

**Звоновой Елизаветы Александровны «Разработка биотехнологической платформы биосинтеза функционально активной пролонгированной формы интерферона бета-1в в бактериальной системе»** представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 –биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Одной из актуальных задач современной биотехнологии является разработка методов получения пролонгированных форм рекомбинантных терапевтических значимых белков (инсулина, гормона роста, эритропоэтина, цитокинов и др.). Модификации рекомбинантных белков путем присоединения полимерных фрагментов являются распространенным путем повышения их стабильности и длительности терапевтического действия. Диссертационная работа **Звоновой Елизаветы Александровны** посвящена именно этой проблеме.

Как правильно отмечает автор, одним из методов получения пролонгированных форм белков является ПЭГилирование, однако сомнения в безвредности таких препаратов заставили искать альтернативные способы повышения стабильности рекомбинантных белков. Присоединение природного биополимера, входящего в состав молекул адгезии нервных клеток млекопитающих и клеточной стенки некоторых бактерий - полисиаловой кислоты, еще один пример улучшения фармакокинетических параметров исходных рекомбинантных белков. Биологической альтернативой ПЭГилированию и гипергликозилированию является присоединение к пептидам или белкам генетически некодируемых аминокислотных последовательностей, которые формируют незаряженную, неструктурированную полипептидную цепочку с хорошей растворимостью близкую по ее биофизическим свойствам к ПЭГ. Последовательность трех аминокислот – пролина, аланина и серина (ПАС)– позволяет осуществлять эффективный биосинтез длинного гидрофильного и хорошо растворимого полипептида. Автор работы сделал выбор в пользу стратегии получения генетического конъюгата INFβ1b (белка с выраженными иммуномодулирующими и противовирусными свойствами) с ПАС–полимером, что делает работу актуальной и имеющей несомненную практическую перспективу.

Достижение поставленной автором цели исследования было сопряжено с решением ряда задач как теоретического, так и методического характера, с которыми соискатель успешно справился.

Автор использовал целый арсенал современных методов генной инженерии, молекулярной биологии, биохимии, биотехнологии, компьютерного моделирования и статистики. В результате **Звоновой**

**Елизаветой Александровной** впервые (i) предложены экспрессионные конструкции для биосинтеза ПАСилированного INF $\beta$ 1b- в клетках *E. Coli* и из 2-х вариантов отобран оптимальный вариант, а именно INF $\beta$ 1b-ПАС; (ii) разработаны эффективные методы культивации и очистки целевого белка с чистотой 90%, (iii) получены некоторые физико-химические характеристики модифицированного белка, (iv) произведена оценка стабильности, функциональной активности и сравнение фармакокинетических свойств ПАСилированного белка с нативным аналогом. Результаты работы имеют хороший практический потенциал, т.к. могут послужить в будущем основой для разработки промышленного регламента получения препарата пролонгированного действия.

Достоверность выводов, изложенных в тексте автореферата не вызывает сомнения. Среди несомненных достоинств работы, следует отметить четко поставленные цель и задачи исследования, соответствие использованных в работе методов, поставленным задачам, правильность выбранной стратегии исследования и квалификацию исполнения. Практически все основные результаты, изложенные в работе, обладают несомненной новизной и практической значимостью.

**Замечания:**

Нет сравнения общего выхода рекомбинантного белка по сравнению с нативным интерфероном  $\beta$ 1b.

Гликозилирование увеличивает период полувыведения в 2-4 раза, полученный рекомбинантный белок - в 2 раза. Не имело ли смысл присоединять ПАС-полипептид размером 400 или 600 аминокислот?

Автореферат содержит несколько стилистических ошибок стр. 14, стр 15.

Все это, однако, не снижает качества работы и диссертационная работа **«Разработка биотехнологической платформы биосинтеза функционально активной пролонгированной формы интерферона бета-1b в бактериальной системе»** по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, а ее автор, **Звонова Елизавета Александровна**, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Грецкая Наталья Михайловна  
Кандидат химических наук,

02.00.10 - биоорганическая химия, химия природных и биологически активных веществ

Старший научный сотрудник лаборатории оксилипинов отдела молекулярной нейроиммунной сигнализации Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН)».

Адрес:

117997 г.Москва, ул. Миклухо-Макляя, д.16/10.

+7(495)330-01-00, office@ibch.ru

e-mail: [Natalia.gretskaya@gmail.com](mailto:Natalia.gretskaya@gmail.com)

Подпись кандидата химических наук Грецкой Н.М. «УДОСТОВЕРЯЮ»

ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН)»,

Доктор физико-математических наук  
Олейников Владимир Александрович

«12» марта 2019 г.

