

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.027.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ»
(МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № ____

решение диссертационного совета от 18 апреля 2019 г., № 1

О присуждении Звоновой Елизавете Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка биотехнологической платформы биосинтеза функционально активной пролонгированной формы интерферона бета-1b в бактериальной системе» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 11 февраля 2019 г., протокол № 4, диссертационным советом Д 006.027.01, созданным на базе Федерального Государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» по адресу 127550, Москва, Тимирязевская, 42 (Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации № 714/нк от 2 ноября 2012 г. о продлении полномочий диссертационного совета).

Соискатель Звонова Елизавета Александровна 1986 года рождения.

В 2008 г. окончила биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова и решением Государственной аттестационной комиссии ей была присуждена квалификация Физиолог по специальности «Физиология». В 2014 г. Звонова Елизавета Александровна поступила в очную аспирантуру кафедры генетики,

биотехнологии, селекции и семеноводства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева) по научной специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). В 2018 г. в ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева выдан диплом по программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки. Решением Государственной экзаменационной комиссии Звоновой Елизавете Александровне присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь». С первого года обучения в очной аспирантуре и по настоящее время соискатель работает в отделе разработки антител группы компаний «Генериум» в должности научного сотрудника.

Диссертация выполнена на кафедре генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Научный руководитель – доктор биологических наук, доцент, **Голденкова-Павлова Ирина Васильевна**, руководитель группы функциональной геномики отдела физиологических и молекулярных механизмов регуляции процессов онтогенеза и адаптации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1) **Ярыгина Елена Игоревна**, доктор биологических наук (специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)), старший научный сотрудник, профессор кафедры радиобиологии и вирусологии им. академиков А.Д. Белова и В.Н. Сюраина Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (109472, Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23);

2) **Дейнеко Елена Викторовна**, доктор биологических наук (03.02.07 – Генетика), главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биоинженерии растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (630090, Россия, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева,10).

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи») в своем положительном отзыве, подписанном Ткачуком Артемом Петровичем, кандидатом биологических наук, руководителем лаборатории трансляционной биомедицины, и утвержденным Гинцбургом Александром Леонидовичем, академиком РАН, доктором биологических наук, профессором, указал, что диссертационная работа Звоновой Елизаветы Александровны «Разработка биотехнологической платформы биосинтеза функционально активной пролонгированной формы интерферона бета-1b в бактериальной системе» по своей актуальности, научной новизне и теоретической значимости соответствует критериям п 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет 7 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 3 статьи в научных журналах из перечня ВАК, индексируемых в базе данных Web of Science и/или Scopus. Авторский вклад соискателя в опубликованных работах составляет не менее 60%: Основные результаты

исследований представлены в материалах 4 всероссийских и международных конференций.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

Zvonova, E.A. PASylation technology improves recombinant interferon- β 1b solubility, stability and biological activity. / E.A. Zvonova, A.V. Ershov, O.A. Ershova, M.A. Sudomoina, M.B. Degterev, G.N. Poroshin, A.V. Ereemeev, A.P. Karpov, A.Yu. Vishnevsky, I.V. Goldenkova-Pavlova, A.V. Petrov, S.V. Ruchko, A.M. Shuster // *Appl. Microbiol. and Biotech.* – 2017. - №101(5).

Звонова, Е.А. Стратегии модуляции фармакокинетики рекомбинантных терапевтических белков. / Е.А. Звонова, А.А. Тюрин, А.А. Соловьев, И.В. Голденкова-Павлова // *Успехи современной биологии.* - 2017. – №137(4). - С. 415-436.

Звонова, Е.А. Технология PASYLATION® позволяет улучшить фармакокинетические свойства рекомбинантного интерферона β -1b человека *in vivo*. / Е.А. Звонова, О.А. Ершова, А.В. Ершов, А.А. Казаров, Е.С. Беянина, М.В. Лыков, А.Ю. Вишневский, А.П. Карпов, С.В. Ручко, А.М. Шустер, А.А. Соловьев, И.В. Голденкова-Павлова // *Биотехнология.* - 2018. - №34(2). - С.37-46

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов. Все отзывы положительные. Авторы отмечают актуальность и научную новизну, высокий методический уровень работы, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, обоснованность выводов и положений, выносимых на защиту. Все авторы отмечают, что диссертационная работа отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Звонова Елизавета Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

На диссертацию и автореферат прислали отзывы:

1. доктор биологических наук **Бунева Валентина Николаевна**, главный научный сотрудник лаборатории ферментов репарации

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН). Отзыв положительный, содержит небольшие замечания к автореферату о разном обозначении интерферона бета-1b в тексте; о надписях на рисунках 4 и 7, сделанных мелким шрифтом; об использовании термина «культивация», а не «культивирование»; о не полном описании получения генно-инженерных конструкций.

2. кандидат биологических наук **Марахонов Андрей Владимирович**, старший научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр». Отзыв положительный, замечаний не содержит.

3. кандидат биологических наук **Пельтек Сергей Евгеньевич**, заведующий отделом молекулярных биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук». Отзыв положительный, содержит пожелание в дальнейшем изучить фармакологическую активность модифицированного интерферона в животных моделях при использовании различных способов введения.

4. кандидат биологических наук **Васина Дарья Владимировна**, научный сотрудник лаборатории молекулярных основ биотрансформаций Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН). Отзыв положительный. Замечания: содержит указание об отсутствии подписи на оси абсцисс на рисунках 6 и 7; о том, что не приведены значения IC50 для препаратов IFN β 1b-PAS сразу после индукции, а только после хранения; и об отсутствии пояснения почему в качестве контроля в

исследовании *in vivo* использовали препарат Инфибета, АО Генериум, а в исследовании *in vitro* - Бетаферон, Авонекс, Ребиф?

5. кандидат биологических наук **Князев Андрей Николаевич**, научный сотрудник лаборатории функциональной геномики и протеомики растений отдела молекулярной биологии и биотехнологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

6. кандидат биологических наук **Павличенко Василий Валерьевич**, старший научный сотрудник лаборатории физиологической генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. Отзыв положительный, имеются замечания, носящие рекомендательный характер: формулировка некоторых положений, выносимых на защиту не совсем удачна - первое и второе положения сформулированы скорее, как задачи, а четвертое как рекомендация; некоторые аббревиатуры (ММЕ, FcRn, ПАС, ИПТГ и др.) не расшифрованы в тексте при первом упоминании; часто используется английский язык, в том числе и при сокращениях (kDa, EU/мг и др.); некоторые рисунки в автореферате очень мелкие и трудно читаемые - не видно доверительных интервалов на графике (7Б), на рисунках 4 и 5 не читаемы подписи пиков, в подписи к рисунку 9 неверно указаны ссылки (А и В) на графики (А и Б); присутствуют опечатки, стилистические неточности, пунктуационные ошибки и научный «сленг»; соискателем указано, что к 24 часам экспозиции полученного препарата в крови крыс его концентрация снижается до изначального значения (рис. 9), однако этот факт не обсужден в тексте автореферата; фармакокинетические характеристики препарата улучшены, однако не ясно можно ли решить заявленную в начале автореферата проблему – избежать необходимость введения препарата каждые 24 часа.

7. кандидат химических наук **Грецкая Наталья Михайловна**, 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. Отзыв положительный. 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 смысла присоединить ПАС-полипептид размером 400 или 600 аминокислот?

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью, многолетним опытом работы и достижениями в биотехнологической отрасли науки. Данные специалисты способны в полной мере оценить научную и практическую ценность диссертационной работы на основании их публикаций.

Доктор биологических наук Ярыгина Елена Игоревна выполняет исследования, посвященные разработке модельных тест систем *in vitro* и *in vivo* для оценки фармакологического действия широкого спектра лекарственных веществ, в том числе биотехнологической природы, и проведению их доклинических исследований. Ярыгина Е.И. имеет большой опыт в разработке и внедрении рекомбинантных биотехнологических препаратов для ветеринарной медицины, а также в области генной инженерии для лечения наследственных заболеваний.

http://www.vniisb.ru/images/news/2019/02/opp_002.pdf

Доктор биологических наук Дейнеко Елена Викторовна является специалистом в области разработки фундаментальных основ биосинтеза рекомбинантных белков в растительных системах экспрессии, под ее руководством выполняются работы, направленные на создание кандидатных вакцин и рекомбинантных белков медицинского назначения.

http://www.vniisb.ru/images/news/2019/02/opp_001.pdf

В структуре ведущей организации Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи») имеется отдел генетики и молекулярной биологии бактерий, в котором осуществляется разработка нового поколения субъединичных кандидатных вакцин, создание диагностических тест-систем для выявления возбудителей инфекционных заболеваний человека, создание векторных систем на основе аденовирусов для обеспечения эффективной экспрессии генов различных патогенов в эукариотических клетках, а также проводится изучение генетических основ бактериальных функций, определяющих жизнеспособность бактерий, их мутабельность и болезнетворное действие.

<http://www.vniisb.ru/images/news/2019/02/org.pdf>

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненного соискателем исследования впервые получена модифицированная ПАС-последовательностью форма рекомбинантного интерферона бета-1. **Установлено**, что при присоединении ПАС-последовательности в С-концевую область интерферона бета полученный белок может быть эффективно наработан в штаммах *E.coli*. **Разработаны** оптимальные условия культивирования штамма-продуцента IFN β 1b-PAS и схемы выделения и очистки рекомбинантного интерферона бета, позволяющая получить функционально-активный образец белка. **Показано**, что добавление ПАС-полипептида размером 200 аминокислот приводит к существенному увеличению гидродинамического радиуса молекулы, улучшает его стабильность и фармакокинетические свойства, не оказывая серьезного влияния на биологическую активность *in vitro*. **Продемонстрировано** положительное влияние ПАС-биополимера на фармакокинетические свойства интерферона бета-1b в экспериментах *in vivo*, включая двукратное увеличение периода полувыведения.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что его результаты расширяют и углубляют современное понимание о молекулярно-биологических механизмах функционирования терапевтических белков в системном кровотоке, а также о возможностях регуляции продолжительности их циркуляции, в том числе с помощью, так называемых неструктурированных полипептидов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанные методы культивирования и выделения IFN β 1b-PAS могут послужить основой для разработки промышленного регламента производства лекарственного препарата интерферона бета пролонгированного действия, и использованы в дальнейших разработках лекарственных препаратов пролонгированного действия на основе рекомбинантных интерферонов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что результаты получены с использованием высокотехнологичных методов исследования, сертифицированного оборудования и классических методов статистической обработки; обеспечены применением современной научно-методической базы; базируются на большом экспериментальном материале.

Личный вклад соискателя состоит в его непосредственном участии в планировании экспериментов, получении экспериментальных данных, их последующей обработке, анализе и интерпретации; подготовке результатов для их опубликования; оформлении текста диссертации и автореферата. Значительная часть экспериментальной работы выполнена соискателем самостоятельно.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи **и соответствует критерию** внутреннего единства, что подтверждается логичностью постановки задач исследования, последовательностью и завершенностью экспериментов, комплектностью полученных результатов и соответствием сформулированным выводам поставленным задачам.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что:

- соблюдены установленные Положением о присуждении ученых степеней критерии, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;

- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

На заседании 18 апреля 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Звоновой Елизавете Александровне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 13, против – нет, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель
диссертационного совета
Д 006.027.01



П.Н. Харченко

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 006.027.01



М.Р. Халилуев

18 апреля 2019 г.