

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Шведовой Анастасии Николаевны «Водное растение *Wolffia arrhiza* в качестве продуцента терапевтических рекомбинантных белков», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология.

Диссертационная работа А.Н. Шведовой посвящена разработке экспрессионной платформы на основе водного растения вольфии бескорневой для наработки терапевтических рекомбинантных белков: гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека и дисульфата гирудина-1. Данные терапевтические белки (ГКСФ и гирудин) производятся преимущественно в дрожжевых системах и могут быть использованы для разработки фармацевтических белковых препаратов. Решение данной задачи требует создания высокоэффективных организмов-продуцентов с высоким содержанием белка в тканях, высокой скоростью роста и наличием высокой регенерационной способности в условиях *in vitro*. Данным условиям удовлетворяют трансформация вольфии бескорневой (*W. arrhiza*). Поиску оптимальных условий трансформации, а также условий дальнейшего культивирования растений вида *W. arrhiza* на питательной среде посвящена настоящая работа. В диссертационной работе реализована интеграция методом агробактериальной трансформации в геном *Wolffia arrhiza* конструкции с геном гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека (hG-CSF), а также с геном дисульфатогирудина-1 (*Hirudin*). Проведен количественный анализ содержания рекомбинантных белков в полученных линиях. Полученные в диссертационной работе результаты, позволяют установить, способна ли *Wolffia arrhiza* стать эффективным растением-продуцентом в качестве экспрессионной платформы для наработки терапевтических белков. Проведенное комплексное исследование оптимальных условий трансформации, а также условий дальнейшего культивирования растений вида *W. arrhiza* обуславливает несомненную актуальность диссертационной работы А.Н. Шведовой.

Результаты, полученные в ходе диссертационной работы, обладают научной новизной, в частности:

1. Разработан баланс регуляторов роста и оптимизированы условия инокуляции (концентрация и тип агробактериального штамма, время кокультивации) для трансформации вольфии, которые повышают эффективность трансформации вольфии в 2 раза.
2. Впервые были получены трансгенные линии вольфии, экспрессирующие рекомбинантный гирудин.
3. Впервые получены трансгенные линии вольфии, эффективно экспрессирующие гранулоцитарный колониестимулирующий фактор человека (ГКСФ).
4. Была осуществлена оценка технологического потенциала использования полученных линий вольфии для трансфера белка в среду для культивирования.
5. Была показана перспективность использования вольфии бескорневой в качестве экспрессионной платформы для наработки рекомбинантных белков.

Результаты диссертационной работы опубликованы в 12 печатных работах, из которых: 3 статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых базой цитирования ВАК РФ, а также 9 тезисов докладов международных и российских конференций. Опубликованные работы соответствуют заявленному содержанию диссертации. Автореферат в полной мере отражает

структуру и содержание диссертации, дает достаточное представление об объеме и достоверности полученных результатов. По качеству поданного материала и структуре изложения диссертационная работа представляет законченную научно-исследовательскую работу, выполненную на актуальную тематику на достаточно высоком уровне. Сформулированные цель и задачи отвечают критериям новизны, а положения, выносимые на защиту, в полной мере отражают содержание диссертационной работы.

Вместе с тем можно сделать следующие замечания, не снижающие научной ценности, а также уровень понимания сути автореферата и общей исключительно положительной оценки работы:

- Приведенное в автореферате описание применения терапевтических белков ГКСФ и гирудина могло бы быть расширено, что могло бы дополнительно подчеркнуть актуальность и значимость выполняемой работы.

- На рисунке 4 автор указывает концентрации инокулюма в оптических единицах при длине волны 600 нм (OD_{600}), имея в виду оптическую плотность на длине волны 600 нм, предположительно измеренную в относительных единицах. Стоит уточнить корректное использование наименования единиц измерения.

- На странице 15 автор по результатам ПЦР-анализа трансгенных линий вольфии демонстрирует гигромицин-устойчивые линии, содержащих полноразмерную вставку тДНК, а 1 линию, содержащую только последовательность устойчивости к гигромицину (рис.7). Тем не менее в тексте автореферата на обсуждается подробно, может ли результат ПЦР-теста, полученный для 1 линии быть ложноположительным, что могло бы раскрыть значение полученных результатов более полно.

- На странице 16 автореферата автор указывает значения уровня накопления гирудина, полученные в результате ИФА для линий Wh-09, Wh-15 и Wh-19. Автор также указывает, что различия в накоплении гирудина в данных линиях статистически не существенны. Краткое описание статистического анализа, устанавливающего наличие существенных отличий между различными группами данных, а также указание значения p (англ. p -value) могло бы усилить формулировку данного высказывания.

Диссертационная работа Шведовой Анастасии Николаевны «Водное растение *Wolffia arrhiza* в качестве продуцента терапевтических рекомбинантных белков», является законченным исследованием высокого уровня, соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. А.Н. Шведова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология.

Даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета и их дальнейшую обработку.

Младший научный сотрудник Лаборатории Клинической Биофотоники Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова

Ровнягина Наталия Романовна

Адрес: 119048, г. Москва, ул. Трубецкая 8,
Научно-технологический парк биомедицины
Первого МГМУ им. И.М. Сеченова
Тел.:+7 (499) 248-05-53
e-mail: rovnyagina_n_r@staff.sechenov.ru



Подпись младшего научного сотрудника Ровнягиной Н.Р. заверяю
Начальник отдела кадров Первого МГМУ им. И.М. Сеченова
Бойцова О.Н.