

В диссертационный совет
Д 006.027.01 на базе
ФГБНУ ВО «Всероссийский Научно-Исследовательский
Институт Сельскохозяйственной Биотехнологии»
127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42.

ОТЗЫВ

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

Работа Шведовой Анастасии Николаевны посвящена разработке экспрессионной платформы на основе растения семейства *Lemnaceae* в качестве продуцента терапевтических рекомбинантных белков. Действительно, проблема экспрессии некоторых белков эукариотического и вирусного происхождения существует и является достаточно актуальной. В *E. coli* и дрожжах некоторые белки или не правильно гликозилируются, или не правильно сворачиваются, или вообще являются токсичными для клеток. В основной в таких случаях в качестве системы экспрессии используют клетки млекопитающих, однако этот метод с одной стороны является дорогостоящим, а с другой дает недостаточно большой выход рекомбинантного белка для его использования в производственных масштабах. Перспективным альтернативным методом может быть использование растений в качестве продуцентов разнообразных рекомбинантных белков человека и животных, имеющих медицинское и ветеринарное назначение. Растительные экспрессионные системы сочетают в себе как возможность получения целевого продукта в больших объемах при невысокой стоимости, так и наличие эукариотической системы, позволяющей проводить структурные модификации белков в процессе трансляции.

В работе описано получение двух рекомбинантных белков гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека (ГКСФ) и секреторного белка слюнных желез пиявки, ингибитора тромбина (гирудин). В качестве продуцента выбраны растения вида *Wolffia arrhiza*. Для их трансформации подобран уникальный баланс регуляторов роста и условий культивирования, разработка которого подробно описана в работе. Соискателем собраны векторные конструкции с целевыми генами белков гирудина и ГКСФ, проведена агробактериальная трансформация и молекулярно-генетический анализ полученных трансгенных линий вольфии. Количественная оценка накопления белков интереса производилась методом ИФА. На одной из трансгенных линий WG-32 с экспрессией ГКСФ изучено накопление целевого белка в культуральной среде. Показано, что порядка четверти всего нарабатываемого в вольфии ГКСФ успешно

транспортировалось в среду культивирования, что позволяет говорить об эффективности использования вольфии в качестве платформы для биофарминга.

В диссертационной работе представлен обширный объём экспериментальных данных. Все исследования выполнены на высоком методическом уровне.

По теме диссертации опубликовано 13 работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для публикации материалов докторских и кандидатских диссертаций («Frontiers in Chemistry», «3 Biotech», «Биотехнология», «Applied Biochemistry and Microbiology»). Материалы диссертационной работы изложены на конференциях, в том международных. Материалы, раскрытые в научных публикациях, полностью соответствуют содержанию работы.

Судя по автореферату диссертации можно сделать заключение о том, что диссертационная работа Шведовой А.Н. «Водное растение *Wolffia arrhiza* в качестве продуцента терапевтических рекомбинантных белков» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности «1.5.6 – биотехнология» является научно-квалификационной работой, в которой осуществлено решение актуальной задачи по экспрессии двух рекомбинантных терапевтических белков (ГКСФ и гирудина) – разработан метод их получения в растениях *Wolffia arrhiza*. Были получены стабильные трансгенные линии вольфии с экспрессией дисульфатогирудина-1 и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека в диапазонах 534,55-775,45 нг/г и 0,36-35,5 мкг/г сырой массы продуцента соответственно. Показана перспективность использования *Wolffia arrhiza* в качестве экспрессионной платформы для наработки терапевтических белков.

Таким образом, диссертация удовлетворяет требованиям, предъявленным к кандидатским диссертациям, а её автор, Шведова Анастасия Николаевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология.

Кандидат биологических наук, снс,
зав. лаб. молекулярной генетики
патогенных микроорганизмов
отдела Эпидемиологии,
ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера

А.С. Долгова



Подпись Долговой А.С. удостоверяю
Ученый секретарь ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера



Г.Ф. Трифонова