

ОТЗЫВ

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

Разработка технологий получения рекомбинантных белков для терапии различных заболеваний человека и животных в последние годы приобретает всё большее значение. Растительные организмы могут служить весьма эффективной платформой для наработки таких белков благодаря низким производственным затратам и возможности быстрого развертывания масштабного производства. Растения семейства Lemnaceae являются удобной экспрессионной системой для решения этой задачи, поскольку отличаются высокой скоростью роста, способностью к накоплению значительного количества белка в тканях и пригодны для выращивания в закрытых стандартизированных условиях внешней среды (биореакторах). В этой связи, актуальность темы кандидатской диссертации А.Н. Шведовой, посвященной разработке экспрессионной платформы на основе *Wolffia arrhiza* (вольфии бескорневой, относящейся к семейству Lemnaceae) для наработки двух терапевтических рекомбинантных белков: гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (ГКСФ) – важного препарата, стимулирующего деятельность костного мозга, применяющегося в онкологии, и гирудина, используемого в качестве противотромботического средства, не вызывает никаких сомнений.

Автору впервые удалось получить растения вольфии, продуцирующие ценные терапевтические белки - гирудин и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор человека. Для достижения этой цели А.Н. Шведовой была проведена классическая генно-инженерная работа по получению трансгенных линий вольфии, несущих целевые генетические конструкции. Эта работа состояла из ряда последовательных достаточно трудоемких операций, выполнение которых требовало высокой профессиональной подготовки. А.Н. Шведовой была проведена оптимизация условий для агробактериальной трансформации вольфии с использованием трех разных агробактериальных штаммов (ЕНА105, СВЕ21, АGL0), в результате чего был определен наиболее эффективный штамм (ЕНА105) и выявлены условия, позволяющие получать максимально высокую частоту транзientной экспрессии маркерного гена *uidA* (концентрация инокулюма, время сокультивирования, концентрации фитогормонов - 2,4-Д и 6-БАП - в среде для сокультивирования). Затем автором была проведена стабильная трансформация плазмидами, несущими целевые гены, и отобраны трансгенные популяции, экспрессирующие целевые белки. Трансгенная природа полученных популяций была доказана с помощью ПЦР-анализа и блот-гибридизации по Саузерну, а накопление рекомбинантных белков - с помощью ИФА и Вестерн-блоттинга. Были выявлены трансгенные линии с высоким накоплением гирудина и ГКСФ.

Большим достоинством данной работы является выявление накопления ГКСФ в культуральной среде, что позволяет предположить рентабельность производства лекарственных препаратов, с использованием получаемого ГКСФ, поскольку выделение препарата из питательной среды является менее трудоемким процессом, по сравнению с его выделением из растительной ткани. Созданные

