

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Меркульевой Юлии Александровны  
«Свойства рекомбинантного рецептор-связывающего домена S-белка SARS-  
CoV-2, полученного в клетках CHO-K1»

на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Диссертационная работа Меркульевой Ю.А. посвящена изучению антигенных, иммуногенных, структурных и физико-химических свойств рекомбинантного рецептор-связывающего домена (RBD) гликопротеина S SARS-CoV-2, полученного с помощью клеточной линии CHO-K1.

Автореферат диссертации хорошо структурирован, результаты исследования изложены логично и последовательно.

К наиболее значимым результатам работы можно отнести следующие:

- в рамках проведенного исследования получен эукариотических продуцент рекомбинантного фрагмента RBD спайк-белка SARS-CoV-2 (Уханьский вариант).

- комплексная характеристика структурных, антигенных, иммуногенных и некоторые физико-химические свойств показала, что рекомбинантный белок RBD по своим характеристикам очень близок к природному вирусному белку.

- проведен сравнительный анализ четырех модельных животных (мыши BALB/c, сирийские хомячки, хорьки и кролики) для оценки иммуногенности рекомбинантного RBD SARS-CoV-2, по результатам которого показан слабо выраженный гуморального иммунный ответ на RBD у сирийских хомячков.

- впервые разработан конъюгат рекомбинантного белка RBD с полиглюкином, спермидином и дсРНК киллерного штамма Y 448 дрожжей *S. cerevisiae*, который способен значительно усиливать специфический гуморальный и Т-клеточный иммунные ответы у мышей линии BALB/c.

Разработанный подход потенциально может рассматриваться как вариант усиления иммуногенных свойств при создании субъединичной вакцины против существующих и будущих вариантов коронавируса.

При оценке актуальности и практической значимости проведенного исследования необходимо учитывать тот факт, что на момент получения результатов они, несомненно, являлись актуальными. Однако из-за высокой динамичности развития пандемии коронавируса, смены одного варианта другим, а также высокой вовлеченности мирового научного сообщества в изучение коронавирусной инфекции актуальные результаты в этой области получают с невероятной скоростью. И то, что вчера казалось актуальным, через неделю затмевается новыми результатами. Например, в настоящий момент перспективы использования уханьского варианта RDB неочевидны. Однако сам по себе подход, разработанный в этом исследовании и описанный в автореферате, может быть быстро адаптирован для получения любого актуального варианта коронавирусного белка, а отработанные протоколы характеристики позволят в краткие сроки верифицировать качество целевого рекомбинантного белка. Поэтому можно смело заключить, что полученные результаты, безусловно, обладают практической ценностью и новизной. Положения, выносимые автором на защиту, научно обоснованы и аргументированы.

Результаты работы отражены в 5 статьях, опубликованных в отечественных и зарубежных рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для защиты диссертаций, тезисах докладов на всероссийских и международных конференциях и защищены патентом РФ.

В качестве некоторого недостатка следует отметить, что в автореферате не приведен рисунок с полученными экспериментальными данными по определению аффинности антител к белку RBD методом биослойной интерферометрии. Такие эксперименты требуют корректной постановки эксперимента, и только первичные данные (кривые

связывания/диссоциации в сочетании с аппроксимирующими кривыми) позволяют оценить достоверность полученных значений констант аффинности, поэтому подобная иллюстрация была бы полезной.

При обсуждении результатов анализа мультимерных состояний полученного препарата белка авторы аккуратно высказывают гипотезу о том, что «мультимеризация RBD может происходить и за счет нековалентных взаимодействий или за счет формирования временных солевых мостиков между аминокислотными остатками, а также между аминокислотными остатками и гликанами молекул RBD». Маловероятно, что это так, поскольку додецилсульфат натрия, использованный при электрофорезе, легко разрушает нековалентные белковые комплексы, особенно при прогревании. Из представленных данных наиболее вероятно, что в данном случае после гель-фильтрации через некоторое время образуются мультимерные формы RBD, в которых копии белка связаны дисульфидными мостиками. В молекуле RBD расположено 9 остатков цистеина, которые могут окисляться кислородом, растворенным в буферных растворах, образуя дисульфидные связи с соседними остатками цистеина. Это предположение можно было бы проверить с помощью электрофореза в редуцирующих, а не только в нередуцирующих условиях (рис. 6В автореферата).

В автореферате также присутствуют некоторые недочеты. Например, на рис. 2Б автореферата (Вестерн-блот анализ на наличие целевого белка) отсутствует маркер молекулярных масс. Кроме того, не обсуждается, почему на том же самом рисунке подвижность внутриклеточной формы RBD-белка выше (более компактный белок), чем подвижность секретированной формы белка в культуральной жидкости (более крупный белок). Вместе с тем, имеющиеся в автореферате недостатки не принципиальны и не уменьшают значимость работы.

В целом, автореферат позволяет сделать вывод о том, что представленная диссертация выполнена на достаточно высоком научном

уровне и отвечает всем требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям и полностью соответствует требованиям пп. 9 – 14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с изменениями в ред. Постановления Правительства Российской Федерации №426 от 20.03.2021), а ее автор, Меркульева Юлия Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Старший научный сотрудник  
Лаборатории молекулярной микробиологии  
ИХБФМ СО РАН,  
кандидат химических наук

Байков

И. К. Байков

Автор отзыва согласен на обработку персональных данных.

Федеральное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН),  
630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8,  
Тел.: (383)363-51-50, E-mail: niboch@niboch.nsc.ru

Подпись Байкова Ивана Константиновича заверяю:  
Учёный секретарь Новопашина Д. С.

