

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

Рецептор-связывающий домен (RBD) S-белка SARS-CoV-2 является основной мишенью для разработки средств диагностики, вакцин и моноклональных антител против COVID-19. Значительные усилия исследователей были направлены на быстрое и эффективное производство рекомбинантных вариантов RBD с помощью различных систем экспрессии. Диссертационная работа Меркульевой Юлии Александровны посвящена разработке продуцента рекомбинантного RBD на основе клеточной линии яичника китайского хомячка (CHO-K1) и комплексному изучению свойств полученного белка. Данное исследование имеет важное практическое значение, поскольку именно клеточная линия CHO-K1 является наиболее ценным промышленным продуцентом рекомбинантных белков для терапевтических препаратов.

В рамках работы получен оригинальный интегративный плазмидный вектор pVEAL2-RBD, обеспечивающий геномную интеграцию и экспрессию последовательности RBD SARS-CoV-2 в клетках CHO-K1. Получен оригинальный продуцент CHO-K1-RBD, обеспечивающий стабильную секрецию RBD SARS-CoV-2 в культуральную среду, обладающий продуктивностью до 100 мг белка с литра культуральной среды при роллерном культивировании. В работе впервые комплексно охарактеризованы структурные, антигенные, иммуногенные и некоторые физико-химические свойства рекомбинантного RBD, полученного в клетках CHO-K1. Впервые проведен сравнительный анализ моделей животных (мыши BALB/c, сирийские хомячки, хорьки и кролики) для оценки

иммуногенности RBD и показан феномен слабо выраженного гуморального иммунного ответа на RBD у сирийских хомячков. Разработан конъюгат RBD с полиглобулином, спермидином и дсРНК киллерного штамма Y 448 дрожжей *S. cerevisiae* в качестве адъюванта, который способен значительно усиливать специфический гуморальный и Т-клеточный иммунные ответы у мышей линии BALB/c и потенциально может рассматриваться как вариант субъединичной вакцины против COVID-19. Штамм CHO-K1-RBD депонирован в банк Коллекции культур клеток ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, на изобретение получен патент РФ № 2752858.

В качестве недостатков автореферата следует отметить:

- экспериментально установленному автором факту, что домен RBD, даже при вычленении его из структуры S-белка сохраняет антигенные свойства не уделено должного внимания (стр. 18);

- по результатам ИФА сывороточные IgG реконвалесцентов достоверно связывались с RBD ($p=0.0007$) и S-тримером ($p=0.0007$). Величина уровня значимости, $p=0.0007$ вызывает сомнения (стр.18);

- на рисунке 14, индивидуальные графики динамики титров специфических IgG в сыворотке крови кроликов, иммунизированных RBD представлены без доверительных интервалов (стр. 22).

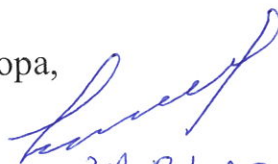
В целом автореферат производит хорошее впечатление. Он составлен с соблюдением установленных требований, изложен логично и аргументированно.

В целом работа Меркульевой Юлии Александровны представляет собой законченное научное исследование, обладающее научной новизной и практической значимостью. Основные результаты диссертационных исследований в достаточном объеме опубликованы в печати. Указанные замечания не касаются основной сути работы и поэтому не снижают научно-практической ценности полученных результатов исследований.

Считаю, что представленная к защите диссертационная работа Меркульевой Юлии Александровны отвечает всем требованиям ВАК РФ,

предъявляемым к кандидатским диссертациям, диссертация 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 заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Ведущий научный сотрудник
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,
доктор технических наук



30.01.2023

В. М. Генералов

Автор отзыва согласен на обработку персональных данных.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека»
630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово,
Тел: +7(383)363-47-00
E mail general@vector.nsc.ru

Подпись Генералова Владимира Михайловича заверяю:

Учёный секретарь
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора», канд. биол. наук



Т.С. Непомнящих