Отзыв

на диссертационную работу

ГРИЦЕНКО ДИЛЯРЫ АЛЕКСАНДРОВНЫ

«Создание вирусного вектора для получения рекомбинантных белков в растениях и исследование эффективности их экспрессии», представленную на соискание ученойстепени доктора философии (PhD) по специальности6D060700 – Биология

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами.

В настоящий момент, рекомбинантные белки используются в различных областяхмедицины, сельском хозяйстве, производстве, научно-исследовательской деятельности и так далее, важность их достаточно сложно оценить, так как необходимость в них возрастает ежегодно.Ожидается, что к 2024 году мировой рынок рекомбинантных белков вырастет на 6.5%. Наиболее быстро растущий рынок представляют страны Азиатско-Тихоокеанского региона. Самый большой рынок рекомбинантных белков представлен странами Северной Америки и Европы, 81% всех известных рекомбинантных белков производится данными регионами. Получение рекомбинантных белков позволяет индивидуализировать лечение заболеваний, примером является получение вакцины от неходжкинсойлимфомы, компанией Icongeneticsв растениях. Такие важные рекомбинантные белки, как антитела, антигены, производственные ферменты, факторы роста клеток, пептидные гормоны, метаболические ферменты и так далее, получают в прокариотическихиэукариотических системах. Производство белков в растениях дает ряд преимуществ, это в первую очередь отсутствие общих патогенов для растений и животных, наличие необходимых постранслящионных модификаций белка,отсутствие необходимости в специализированном оборудовании для выращивания растений по сравнению с выращиванием клеток животных, быстрое масштабирование производства. Разработка генетических систем для повышения выхода рекомбинантного белка с сохранением вопросов биологической безопасности является актуальной темой биотехнологии.Использование вирусных векторов дляэкспрессии гетерологичных белков в растениях дает возможность получать целевые белки в высокой концентрации. Кроме того, преимущества использования вирусных векторов заключаются в гибкости генетической системы и скорости накопления целевого белка. Гриценко Диляраразработала два вектора на основе генома вируса А винограда путем использования двух стратегий конструирования векторов.Полученные вирусные векторы на основе генома ВАВ являются стабильными и безопасными для окружающей среды.Разработанные векторы Гриценко Д. позволяют получать важные рекомбинантные белки в растениях для целей медицины и сельского хозяйства.Кроме того, разработанные векторы в рамках выполнения

диссертации уже были апробированы путем экспрессии антигенов *Brucellaabortus* и*Erwiniaamylovora.*Также, разработанные векторы могут быть использованы в изучении функциональной геномики винограда для целей выведения новых отечественных сортов, устойчивых к различным стрессам.Диссертационная работа была выполнена в рамках научных проектов 1334/ГФ «Разработка вирусного вектора для получения рекомбинантных белков в растениях», № AP05132367 «Биотехнология получения вакцин в растениях с использованием вирусного вектора» общегосударственных программ.

2. Научные результаты и их обоснованность.

Результаты, полученные Гриценко Д. при выполнении диссертационной работы,являются достоверными, обоснованными иполностью раскрывают поставленную цель и задачи. В ходе выполнения диссертационной работы были получены следующие основные результаты:

- был проведен филогенетический анализ PA3 изолята BAB относительно изолятов из Южной Африки. PA3 изолят был распределен в группу I, изоляты данной группы обладают средней патогенностью и вызывают слабые поражения.

- был разработан вектор на основе полного генома вируса А винограда (pCAMV1aTeGE/ pCAMV1aTaCPE) путем внесения гетерологичного гена под контроль субгеномного промотора капсидного белка (КБ) BAB между открытой рамки считывания 4 и открытой рамкой считывания 5.

- был разработан вектор путем деконструирования генома вируса А винограда (pCAMV1bTeGE/pCAMV1bTaCPE). Открытая рамка считывания 4 BAB была заменена на гетерологичный ген, который находился под контролем субгеномного промотора капсидного белка BAB.

- были полученытрансгенные растения, несущие ген, кодирующий капсидный белок BAB

- денситометрический анализ для вирусного вектора на основе полного генома BAB показал, что количество субгеномной РНК для трансгена соответствует количеству субгеномной РНК для капсидного белка BAB немодифицированного генома. Количество гетерологичного белка соответствует количеству капсидного белка BAB немодифицированного генома.Вирус при разработке вектора на основе полного генома сохраняет свою способность передвигаться по растению как локально, так и системно.

- денситометрический анализ для вирусного вектора с заменой ОРС4 показал, что количество субгеномной РНК гетерологичных генов при агроинфильтрациинетрансгенных растений в 7 раз ниже по сравнению с количеством субгеномной РНК при агроинфильтрациитрансгенных растений, несущих ген капсидного белка BAB. Анализ эффективности экспрессии целевого белка в вирусном векторе с заменой ОРС4 показал, что количество целевого белка при агроинфильтрациинетрансгенных растений в 7 раз ниже по сравнению с количеством целевого белка и КБ BAB при агроинфильтрациитрансгенных растений вирусным вектором и при

агроинфильтрациинетрансгенного растения немодифицированным ВАВ соответственно.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого научного результата, выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации

Результаты, выводы и заключение, представленные в диссертационной работе Гриценко Д., являются хорошо обоснованными и представляют собой цельную, законченную работу. Приведенные данные былиполученыэкспериментальным путем с правильной статистической обработкой и являются достоверными и обоснованными.Все выводы диссертации являются логическим заключением полученных результатов.

Достоверность результатов и выводов данной работы не вызывает сомнений, поскольку они получены при использовании современных методов исследования, и полностью соответствуют поставленным задачам. Кроме того, результаты отражены в публикациях и патентах соискателя.

4. Степень новизны каждого научного результата.

В диссертационной работе впервые представлены следующие результаты:филогенетический анализ изолята РА-3 ВАВ, было установлено распределение данного изолята в монофилетическую группу I; созданиедеконструированного вектора на основе генома вируса А винограда, с расположениемгетерологичных генов под контроль субгеномного промотора капсидного белка ВАВ;подтверждение локального и системного передвижения вируса с дополнительными 19 аминокислотными остатками на С-конце капсидного белка ВАВ; определение влияния капсидного белка на накопление вирусной РНК и белков в случае деконструированного вектора, получение рекомбинантных белков может осуществляться только при восстановлении экспрессии капсидного белка ВАВ в транс-системах.

Каждыйнаучный результат, полученный в диссертационной работе, обладает новизной и отражен в публикациях соискателя.

5. Практическая и теоретическая значимость научных результатов.

Полученные научные результаты Гриценко Д. в рамках выполнения диссертационной работы имеют кактеоретическое, так и практическое значение. Данные результаты позволяют расширить знания в области молекулярной биологии вируса А винограда, механизмов передвижения вируса по растению. Разработанные вирусные векторы на основе генома ВАВ могут быть использованы для получения рекомбинантных белков в растениях для нужд медицины и сельского хозяйства. В настоящий момент, важные фармакологические рекомбинантные белки являются исключительно импортными и не производятся в пределах страны. Получение

отечественных рекомбинантных белков позволит значительно снизить на них цену. Разработанные векторы уже успешно апробированы для получения антигенов *Brucellaabortus*с целью получения отечественных рекомбинантных вакцин против бруцеллёза крупного рогатого скота.

6. Замечания, предложения по диссертации.

Замечания по диссертационной работе:

- в разделе МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, автор слишком подробно описывает общеизвестные методы молекулярной биологии. Следует ссылаться на общепринятые методы и сократить описание;
- на стр. 21, 124 имеются опечатки;
- по разработке трансгенных растений, изменить рисунок 57, добавить измерительную шкалу для каждой фотографии.

Сделанные замечания не уменьшают ценность данной работы и не влияют на основные положения работы, выносимые на защиту.

7. Соответствие содержания диссертации в рамках требований Правил присуждения ученых степеней.

Диссертационная работа выполнена соискателем самостоятельно на высоком научно-исследовательском уровне.Основные результаты исследований опубликованы в 19-ти печатных работах, в том числе 3 статьи и 1 тезис в журналах с импакт-фактором, 5 статей в республиканских научных журналах из перечня Комитета, 10 тезисов в материалах 8-ми международных конференций и саммитов, 2 патента, 1 заявка на патент и 2 авторских свидетельства, 2 акта внедрения научно-технической разработки.Диссертационная работа обладает научной новизной, теоретической и практической значимостью.При выполнении диссертационной работы Гриценко Д. провела глубокий анализ научной литературы по теме выполненной диссертации за последние 5 лет. Диссертационная работа Гриценко Д. полностью соответствует требованиям «Правил присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертационным работам, а соискатель заслуживает присуждение степени доктора философии (PhD) по специальности 6D060700-«Биология».

Официальный рецензент:
зав. кафедройбиотехнологии и микробиологии
Евразийский национальный университет
имени Л.Н. Гумилева, к.б.н
_____ Р.Т. Омаров

Қолын куәландырамын
Л.Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ
ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
КАДР ҚЫЗМЕТІ
«10» 06 2019 г.