

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

ХЛУСЕВИЧ ЯНЫ АЛЕКСАНДРОВНЫ

«ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩИЕ  
РЕКОМБИНАНТНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ИММУНОДОМИНАНТНОГО  
БЕЛКА р35 ОРТОПОКСВИРУСОВ: ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ»

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Одним из наиболее опасных для человека является вирус натуральной оспы. Среди циркулирующих, в настоящий момент, наибольшую угрозу для человека представляет вирус оспы обезьян, способный вызвать генерализованную инфекцию. Ослопрививание может сопровождаться рядом осложнений, особенно у людей с врожденным или приобретенным иммунодефицитами. В настоящее время таким средством является вакцинный иммуноглобулин, получаемый из сыворотки крови вакцинированных доноров. Однако, использование препаратов, полученных из человеческой крови, всегда сопровождается определенным риском. В выдвигаемой на защиту работе предлагается для этих целей использовать человеческие рекомбинантные антитела и, в качестве возможной альтернативы, укороченные антигенные детерминанты одного из капсидных белков вируса.

Для этого непатогенным для человека вирусом экстремелии была проскринирована иммунная фаговая библиотека одноцепочечных антител на основе РНК периферических лимфоцитов добровольцев, вакцинированных вирусом осповакцины. Был получен ряд одноцепочечных антител с последующим анализом их ДНК и аминокислотных последовательностей.

Вестерн-блот анализ показал способность связывания человеческих одноцепочечных антител с целой группой ортопоксвирусов. Причем узнавание полученных антител было по общему для этих вирусов капсидному белку р35. Результаты этих экспериментов были подтверждены атомно-силовой микроскопией, а наличие вируснейтрализующих свойств у человеческих одноцепочечных антител проверялось на культуре эукариотических клеток. Следующей задачей стало получение полноразмерных антител человека класса IgG1 на основе одноцепочечных. Сначала были созданы ДНК конструкции с последующей трансфекцией клеток млекопитающих, очисткой антител аффинной хроматографией и их характеристикой.

Параллельно с этим были определены антигенные детерминанты капсидного белка р35, на которые и были получены рекомбинантные антитела. Была найдена минимальная область р35, распознаваемая антителами. Этот рекомбинантный белок был экспрессирован в бактериальных клетках, очищен и охарактеризован с последующей иммунизацией мышей для подтверждения его иммунореактивности. Последней задачей данной работы было картирование полипептидных петель белка р35, ответственных за выработку антител с заключительным молекулярным моделированием.

Диссертация написана по всем требованиям ВАК и по классической схеме: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы. Работа изложена на 155 страницах с содержанием 39 рисунков и 9 таблиц и совершенно незначительными опечатками (например, двоякое написание *E. coli* или *E.coli* с пробелом и без, разные шрифты по тексту, разное использование дефиса). Список литературы состоит из 210 источников. Обзор литературы написан грамотно и весьма квалификационно. Он состоит из трех больших разделов: Род ортопоксвирусов, Эпитопное картирование вирусных белков, Фаговый дисплей. В методическом разделе диссертации



описание биохимических, физико-химических, иммунологических, молекулярно-биологических, генно-инженерных методов; работы с клеточными культурами млекопитающих и с лабораторными животными; молекулярного моделирования свидетельствует о тщательном подходе автора к постановке всех проделанных экспериментов на самом высоком современном уровне и о большом объеме проделанной работы. В разделе «Результаты» автор достаточно четко излагает основные достижения своей работы.

Рецензируемая диссертация крайне интересна, добротна и качественно выполнена и характеризует ее автора, Хлусевич Я.А., как вполне сформировавшегося и зрелого ученого. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертационной работы. Результаты исследований опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК, и были широко представлены на российских и международных конференциях. Диссертация Яны Александровны Хлусевич соответствует всем требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Диссертация оформлена в соответствии с Приложениями №5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. По актуальности, новизне, оригинальности работы и практической значимости результатов, нет сомнения, что ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

04 декабря 2019

Директор Института экологии человека  
Федерального исследовательского  
центра угля и углехимии СО РАН,  
д.м.н., профессор



Глушков Андрей Николаевич

Подпись Глушкова А.Н. заверяю  
Ученый секретарь ФИЦ УУХ СО РАН,  
к.т.н.



Зиновьев В.В.

Почтовый адрес: 650065, Кемерово,  
Ленинградский проспект, 10  
Рабочий телефон: (3842) 57-50-08

e-mail: [glushkovan@ihe.sbras.ru](mailto:glushkovan@ihe.sbras.ru)