ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 217.013.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ ПРОМЫШЛЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
НАЦИОНАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА КУРЧАТОВСКИЙ
ИНСТИТУТ» (НИЦ «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ» - ГОСНИИГЕНЕТИКА) ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

решение диссертационного совета от 9 октября 2018 г. № 18

о присуждении Ворониной Екатерине Владимировне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка технологии получения моноклонального антитела к фактору некроза опухолей альфа в целях биофармацевтического производства» по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология» принята к защите 5 июня 2018 г., протокол №16 диссертационным советом Д 217.013.01, созданным на базе НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика (117545, Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1), утвержденного приказом Минобрнауки РФ № 105/НК от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Воронина Екатерина Владимировна, 1990 года рождения, в 2013 году окончила магистратуру по направлению 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) при Московском университете тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова (МИТХТ), ныне Московский технологический университет. В 2017 году Екатерина Владимировна окончила аспирантуру при Московском технологическом университете и в настоящее время работает научным сотрудником в отделе медицинской биотехнологии НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика.

Диссертационная работа выполнена в отделе медицинской биотехнологии государственного бюджетного учреждения Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра "Курчатовский институт" на базе департамента экспериментального производства ООО «ФАРМАПАРК».

Научный руководитель:

Серегин Юрий Александрович – кандидат биологических наук, заместитель директора НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика.

Официальные оппоненты:

Лунин Владимир Глебович – доктор биологических наук, руководитель лаборатории биологически активных наноструктур НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития, г. Москва,

Купцов Василий Николаевич – кандидат биологических наук, заместитель исполнительного директора по разработке и производству АФС АО «Биохимик», г.Саранск, дали **положительные** отзывы на диссертацию.

Ведущая организация, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном кандидатом биологических наук Воронько Ольгой Евгеньевной, являющейся ведущим научным сотрудником лаборатории медицинской протеомики, указано, что тема диссертации, посвященная разработке опытно-промышленной технологии получения высокоэффективного полностью гуманизованного моноклонального антитела адалимумаб - ингибитора фактора некроза опухоли альфа, для лечения ревматоидного артрита и других аутоиммунных заболеваний, является неоспоримо востребованной задачей в рамках реализации стратегии снижения импортозависимости в сфере российского здравоохранения, обеспечивающей необходимый объем гарантированной государством медицинской помощи населению.

Однако отмечая достоинства диссертационной работы и ее практическую значимость, следует отметить некоторые недочеты:

1. В п. 2 выводов изложены общеизвестные вещи, которые не являются результатами диссертанта, при этом первое предложение в п.4 дублирует п.2. Логично было бы переформулировать п.2 с упоминанием экспериментальных данных автора относительно влияния Man5 на эффекторные свойства антитела;

2. В диссертации при сравнении показателей процентного содержания гликана Man5 и EC50 для производимого и оригинального антител, для оригинального антитела в разных местах приведены разные цифры. Та же ошибка присутствует и на стр. 14 и 15 автореферата;

3. В главе про исследование биоподобия антитела кратко упоминаются доклинические исследования токсичности полученного антитела на яванских макаках и трансгенных мышах. Однако остается непонятным, кем проводились эти исследования.

Вместе с тем, указанные замечания не снижают ценности диссертационной работы, не влияют на ее главные работы и носят рекомендательный характер. Также отмечено, что по актуальности, научной новизне, фундаментальной и практической значимости диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученой степени» утвержденного постановлением правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. в редакции от 28.08.2017 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 9 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 2 работы, в зарубежном журнале, индексируемом в Web of Science и Scopus - одна работа, и пять публикаций, цитируемых в базе РИНЦ.

Список научных работ по теме диссертаций:

1. **Воронина Е.В.** Оптимизация состава питательных сред для культивирования клеточной линии CHO - продуцента моноклонального антитела к фактору некроза опухолей альфа. / Биотехнология. – 2016. – Т.32. – №6. – С. 60-67.

2. Лобанова Н.В., **Е.В. Воронина** и др. Оптимизация маннозных гликанов при культивировании продуцента антител к фактору некроза опухоли альфа / Биофармацевтический журнал. – 2017. – Т. 9. – № 3. – С. 3-13.

3. **Voronina E. V.** et al. Design of a stable cell line producing a recombinant monoclonal anti-TNF α antibody based on a CHO cell line Producing Recombinant monoclonal antibody to tumor necrosis factor alfa based on CHO-DG44/ SpringerPlus. – 2016. – Т. 5. – № 1. – С. 1584.

На диссертацию и автореферат поступили **положительные** отзывы:

от к.х.н. Соковинова, доцента кафедры органической и биологической химии факультета биологии и экологии Ярославского государственного университета им П.Г. Демидова,

от к.б.н. Розова, научного сотрудника НИИ физико-химической биологии им А.Н. Белозерского МГУ им М.В.Ломоносова.

от к.б.н. Антиповой. Научного сотрудника лаборатории мембранных биоэнергетических систем Института биоорганической химии;

от к.б.н. Тюпа, научного сотрудника Международного биотехнологического центра «Генериум».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными интересами и достижениями в области молекулярной биологии, биосинтеза нуклеиновых кислот и белка, геной, белковой и клеточной инженерий, физико-химических свойств белков структур, позволяющими оценить научную и практическую значимость диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Создана клеточная линия, обеспечивающая стабильный биосинтез полноразмерного моноклонального антитела адалимумаб, с использованием методов геной и клеточной инженерии, включающих оптимизацию нуклеотидных последовательностей генов тяжелой и легкой цепей антитела для экспрессии в клетках эукариот, селекцию и амплификацию клонов, исследование уровня экспрессии и ростовых характеристик продуцентов.

Изучены физико-химические свойства моноклонального антитела в зависимости от условий культивирования: первичная структура; вариации С-концевых последовательностей аминокислот; содержание, структура углеводов и их распределение; гетерогенность антитела по составу заряженных изоформ, характеризующих размер и заряд молекулы.

Проведена оптимизация условий суспензионного культивирования продуцента и масштабирование технологии в биореакторах с разным типом перемешивания.

Предложены оригинальные подходы моделирования состава и распределения гликозилированных форм моноклонального антитела.

Выполнены три серии культивирования продуцента моноклонального антитела адалимумаб в полупромышленном масштабе, подтвердившие стабильность и воспроизводимость процесса.

Подтверждено исследованиями *in vivo* и *in vitro* биоподобие воспроизведенного антитела, получаемого по разработанной технологии, в сравнении с оригинальным антителом в рамках его изменчивости.

Осуществлен расчёт технико-экономических показателей, подтвердивший перспективность и рентабельность производства биоподобного моноклонального антитела адалимумаб. Использование отечественного и безопасного лекарственного средства со сниженной стоимостью предоставит возможность системе здравоохранения уменьшить нагрузку на бюджет и сэкономить средства для последующего инвестирования в новые области.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Изучены физико-химические свойства антитела адалимумаб и ростовые характеристики продуцента в зависимости от состава сред, подпиток, различных добавок, типа перемешивания при культивировании продуцента на основе клеток CHO.

Доказано, что оптимизация профиля гликозилирования на этапе разработки технологии культивирования позволяет моделировать эффекторные функции молекулы антитела.

Обнаружено, что эффективность связывания рецептора FcγRIIIA (CD16a) на поверхности натуральных киллеров с Fc-участком антитела на основе IgG1 зависит от содержания нефукозилированного гликана Man 5 в профиле гликозилирования.

Показано, что эффективное увеличение содержания гликана Man5 в профиле гликозилирования антител при культивировании эукариот обеспечивается безопасной добавкой - сахарозой.

Доказано, что увеличение выхода целевого продукта при культивировании эукариот обеспечивается применением двухфазного температурного режима в реакторе волнового типа.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

1. Разработана опытно-промышленная технология суспензионного культивирования клеток CHO, позволяющая осуществлять стабильное промышленное производство биоаналога моноклонального антитела адалимумаб с

полноценными иммунобиологическими свойствами, обеспечивая его безопасное и эффективное применение.

2. Представлены рекомендации для проведения клинических испытаний организациями, которые проводили контроль воспроизведенного моноклонального антитела на эффективность и безопасность.

3. Представлены рекомендации к внедрению разработанной технологии в серийное производство на площадке ООО «Фармапарк».

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

что научные положения и выводы основаны на экспериментальных результатах, полученных с использованием комплекса современных методов генетической и клеточной инженерий, молекулярной биологии и биохимии;

для экспериментальных работ показана воспроизводимость результатов, полученных на сертифицированном оборудовании;

теоретические положения и выводы, изложенные в диссертационной работе, базируются на полученных автором экспериментальных результатах и анализе современных литературных данных;

использованы современные методики сбора и обработки исходной информации, что свидетельствует о высоком методическом уровне.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном планировании исследований, выполнении основной экспериментальной работы, обработке, анализе и обсуждении полученных результатов.

На заседании 9 октября 2018 года диссертационный совет принял решение присудить Ворониной Е.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 9 докторов наук по специальности 03.01.03 –молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 12, против - 2, недействительных бюллетеней – 2.

Заместитель председателя диссертационного совета

д.б.н., профессор,

Ученый секретарь диссертационного совета

к.х.н., доцент

Яненко А.С.

Воюшина Т.Л.