

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Серёгина Сергея Викторовича

«Оптимизация конструкций рекомбинантных ДНК для получения иммунобиологических препаратов», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Работа С.В. Серёгина посвящена получению и оптимизации оригинальных генно-инженерных конструкций, направленных на эффективный синтез ряда иммуномодуляторов и создание перспективных ДНК-вакцинных препаратов против СПИД и Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), а также разработке современных методов экспресс-диагностики и генотипирования вируса ККГЛ в биологических образцах. Поскольку эффективные и безопасные вакцинные препараты против этих опаснейших инфекций до сих пор не разработаны или развиты слабо, данное направление исследований является весьма актуальным, позволяющим в перспективе создавать новые диагностические и профилактические препараты и лекарственные средства.

В иницирующих экспериментах автором проведено конструирование рекомбинантных плазмид, содержащих эффективные транскрипционные элементы и обеспечивающих удобство клонирования и высокий уровень экспрессии в клетках *E. coli* природных, мутантных и химерных иммуномодулирующих белков. На основе многочисленных опытов автор убедительно обосновал и впервые подтвердил экспериментальную возможность использования кассеты «промотор гена *recA* *P. mirabilis* – полилинкер – терминатор транскрипции *ttrpA* *E. coli*» для эффективной экспрессии чужеродных генов в клетках *E. coli*. С использованием данной кассеты сконструирована экспрессионная векторная плазида pRTU1, на основе которой получены продуценты таких иммуномодулирующих белков, как IL-2 человека и двух его мутантных аналогов; двух химерных белков ILA и AIL, состоящих из IL-2 человека и цитотоксической А-субъединицы токсина шигеллы; анафилатоксина C5a человека; ангиогенина человека; белка вируса натуральной оспы, гомологичного одному из рецепторов IFN человека.

Значительный раздел работы посвящен разработке и анализу рекомбинантных плазмид для создания на их основе ДНК-вакцинных препаратов против вируса ВИЧ-1. Для этого автором была предложена оригинальная блочная схема синтеза

искусственного гена TCI, кодирующего множественные CTL-эпитопы основных антигенов ВИЧ-1. Впервые показано, что сконструированные на основе этой схемы рекомбинантные плазмиды, обеспечивают эффективную экспрессию искусственного гена TCI в эукариотических клетках под контролем сильных вирусных промоторов (из длинных концевых повторов вируса саркомы Рауса и предраннего промотора цитомегаловируса). По результатам сравнительного изучения их иммуногенности была отобрана плазида pcDNA-TCI для дальнейшей разработки кандидатных вакцин против ВИЧ-1.

Логичным продолжением работы является большой раздел по конструированию серии экспрессионных векторов (pV1, pV2, pV3), обеспечивающих универсальность клонирования целевых генов, для изучения иммуногенности получаемых ДНК-вакцинных конструкций. На основе этих векторов создан оригинальный набор рекомбинантных ДНК-вакцинных конструкций против ВИЧ-1 и ККГЛ и проведены исследования, направленные на изучение их иммуногенного потенциала. На основании полученных данных автором сделано заключение о правомерности концепции, согласно которой убиквитин-зависимое нацеливание полиэпитопной конструкции на протеасому, а также ее оптимизация путем использования спейсерных последовательностей, содержащих сайты протеасомного расщепления и мотивы для связывания эпитопов с транспортными белками, ассоциированными с процессингом антигенов, обеспечивает рациональный дизайн полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов, нацеленный на повышение их иммуногенности.

С моей точки зрения, перспективным направлением исследований С.В. Серёгина является разработка экспресс-диагностики ККГЛ, с использованием комбинации методов ОТ-ПЦР и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, обеспечивающих уверенное обнаружение вирусной РНК в биологических образцах и позволяющих проводить генотипирование различных биовариантов вируса.

В целом можно заключить, что работа выполнена на высоком профессиональном уровне и представляет собой законченное научное исследование. Приятно поражают большой объем, сложность и изящество проделанных генно-инженерных экспериментов. Актуальность и большое практическое значение работы Серёгина С.В. подтверждают 8 патентов РФ на изобретения.

Автореферат оформлен грамотно, результаты исследований и их обсуждение изложены ясно и последовательно. Достоверность выводов, изложенных в тексте

автореферата, не вызывают сомнений.

Незначительные погрешности при оформлении автореферата, касающиеся неправильно оформленных подписей к рисункам 4, 8, 9, 10, 12, 15, 16, 18, 26 и 28, не снижают общее очень высокое качество работы.

Учитывая актуальность, новизну, фундаментальную и практическую значимость исследований, следует отметить, что работа С.В. Серёгина соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.03 «молекулярная биология», а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук.

Заведующий лабораторией хромосомной инженерии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения
Российской академии наук (ИМКБ СО РАН),

д.б.н.

 Демаков С.А.

630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева д. 8/2,
Лаборатория хромосомной инженерии,
доктор биологических наук, 03.02.07-генетика
тел (383) 363-90-59,
demakov@mcb.nsc.ru

