

**Заключение Комиссии Диссертационного Совета Д 208.046.02 при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Горяиновой Оксаны Сергеевны на тему: «Получение и использование однодоменных рекомбинантных антител для повышения эффективности исследований белков-маркеров в крови человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.**

Комиссия в составе:

Доктор медицинских наук, профессор РАН Алешкин Андрей Владимирович  
(председатель)

Доктор медицинских наук Кречетова Любовь Валентиновна

Доктор биологических наук Лахтин Владимир Михайлович

Кандидат медицинских наук Новикова Лидия Ивановна

Диссертационная работа Горяиновой Оксаны Сергеевны соответствует специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология (биологические науки).

Научный руководитель:

Тиллиб Сергей Владимирович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярных биотехнологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук (ФГБУН ИБГ РАН).

Работа посвящена получению и исследованию новых реагентов и методов на основе однодоменных антител, специфически связывающих заданные высокопредставленные или низкопредставленные белки крови, для повышения эффективности диагностических анализов биомаркеров в крови человека. Существующие на сегодняшний день коммерчески доступные системы для предобработки плазмы крови не соответствуют всем желаемым требованиям, предъявляемым таким набором.

Впервые описана квазициклическая процедура последовательного поэтапного генерирования однодоменных антител (наноантител) к основным антигенам сложной субпротеомной смеси на примере генерирования наноантител к ряду высокопредставленных белков плазмы крови человека.

Проведены последовательные стадии селекции, в результате чего впервые получены новые однодоменные антитела, узнающие ряд высокопредставленных белков плазмы крови человека (сывороточный альбумин, IgG, IgA, IgM, фибриноген, альфа-2-макроглобулин, трансферрин). Получены новые иммуносорбенты на основе однодоменных антител, позволяющие осуществлять высоко специфическое удаление или обогащение конкретного плазматического белка. Показана эффективность предобработки плазмы крови с помощью полученных иммуносорбентов для последующего иммуноферментного анализа на примере диагностически важного белка лактоферрина. Продемонстрирована возможность использования полученных иммуносорбентов для предобработки плазмы крови с целью последующей детекции низкопредставленных белков на примере карциноэмбрионального антигена.

Получены однодоменные антитела к диагностически важному белку интерлейкину-6 с целью их дальнейшего использования для специфического обогащения или выделения заданного маркерного белка и ассоциированных с ним молекул. Потенциально полученные однодоменные антитела могут быть использованы для повышения эффективности и надёжности некоторых методов его детекции, используемых в клинической лабораторной диагностике

Практическая значимость работы обусловлена созданием новых реагентов на основе однодоменных антител, распознающих ряд высокопредставленных белков плазмы крови человека. Их использование позволяет специфически удалять белки, вносящие помехи в диагностические анализы, или же наоборот, выделять конкретный высокопредставленный белок и ассоциированные с ним субпротеомы.

Результаты настоящего исследования могут использоваться для повышения качества клинической лабораторной диагностики. Научно обосновано и подтверждено, что существует вероятность ложноположительных и ложноотрицательных результатов при постановке диагностически важных анализов, в частности, иммуноферментного анализа. В результате проведенной работы предложены дополнительные методы и подходы для специфической предобработки плазмы или сыворотки крови человека с целью снижения вероятности диагностических несовершенств и ошибок проводимых анализов.

Сведения о наноантителах, методах их получения и использования могут войти в состав специализированных биотехнологических курсов в высшей школе и курсов повышения квалификации.

Ряд антител, полученных в ходе данной диссертационной работы, запатентован. Материалы диссертации используются в работе кафедры иммунологии биологического факультета Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова в рамках обучения студентов бакалавриата 4 курса на занятиях «Практикум по иммунологии». Исследования и результаты, полученные в ходе выполнения данной диссертационной работы связаны с планом научной работы Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук, что отражено в соответствующих планах НИР.

О достоверности полученных результатов работы свидетельствует значительный объем исследований с применением современных инструментальных методов. Обсуждение результатов проведено с учетом современных данных медицинской и биологической науки.

Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, обоснованы и подтверждены фактическим экспериментальным материалом с применением высокотехнологичных современных методов молекулярной биологии, молекулярной иммунологии и микробиологии.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы были доложены и представлены на международных научных конференциях.

По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, из них 4 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Scopus, в том числе 3 работы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 4 тезисов научных конференций, а также оформлено 2 патента.

Анализ проверки диссертации и автореферата Горяиновой О.С. с помощью онлайн-сервиса проверки текста на уникальность «<https://www.antiplagiat.ru>» показал, что в тексте диссертации и автореферате имеются совпадения с данными литературы. Совпадения являются корректными и имеют ссылки на источники заимствования и авторов.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета.

В качестве ведущей организации рекомендуется утвердить Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Согласие ведущей организации имеется.

**В качестве официальных оппонентов предлагаются:**

**Филатов Александр Васильевич** – доктор биологических наук (14.00.36 –аллергология и иммунология), профессор, заведующий лабораторией иммунохимии (№23) Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства.

**Микаелян Арсен Суменович** – кандидат биологических наук (03.00.15 – генетика), руководитель группы молекулярно-генетических основ онтогенеза, старший научный сотрудник лаборатории проблем регенерации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук


Согласие оппонентов имеется.

**Заключение:** комиссия Диссертационного Совета Д 208.046.02 при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора рекомендует принять к защите кандидатскую диссертацию Горьковой Оксаны Сергеевны на тему: «Получение и использование однодоменных рекомбинантных антител для повышения эффективности исследований белков-маркеров в крови человека» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Заключение подготовили члены Диссертационного Совета:


**Председатель:**

главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и  
биотехнологии бактериофагов  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук, профессор РАН

 Алешкин А.В.

**Члены комиссии:**

заведующая лабораторией клинической иммунологии  
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава РФ  
доктор медицинских наук

 Кречетова Л.В.

главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и  
биотехнологии бактериофагов  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук

 Лахтин В.М.

ведущий научный сотрудник, руководитель  
лаборатории иммунобиологических препаратов  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора  
кандидат медицинских наук

 Новикова Л.И.