

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.158.02,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ИНСТИТУТ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 21.10.2021 № 70

О присуждении Монаховой Варваре Сергеевне, гражданину  
Российской Федерации, ученой  
степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Получение и биохимическая характеристика  
рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека»  
по специальности 1.5.4. Биохимия  
принята к защите 27.05.2021 года (протокол заседания № 59)  
диссертационным советом 24.1.158.02,  
созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного  
учреждения «Институт экспериментальной медицины» по адресу: 197376,  
Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д.12 (утвержден приказом  
Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Монахова Варвара Сергеевна, 1991 года рождения,

В 2013 году окончила «Санкт-Петербургский государственный  
технологический институт (технический университет)» по специальности  
«Биотехнология»,

В 2018 году окончила аспирантуру на базе Астраханского  
государственного университета,  
работает старшим инженером-технологом гибридной лаборатории в  
компании «Алкор Био».

Диссертация выполнена в лаборатории биохимии белка Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства.

Научный руководитель – доктор медицинских наук, Симбирцев Андрей Семёнович, Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, лаборатория биохимии белка, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Субботина Татьяна Федоровна - доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел биохимии научно-образовательного института биомедицины, лаборатория биохимического мониторинга, заведующая.

Шпаков Александр Олегович - доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» Российской академии наук, лаборатория молекулярной эндокринологии и нейрохимии, заведующий,  
дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации в своем положительном отзыве, подписанном Ивановым Андреем Михайловичем доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН, заведующим кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, и Грашиным Романом Ариковичем доктором медицинских наук, доцентом, профессором кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ и утвержденном заместителем начальника Военно-медицинской академия им. С.М. Кирова МО РФ по научной работе доктором медицинских наук, доцентом Ивченко Евгением Викторовичем указала, что в исследовании содержится решение актуальной научно-практической задачи – разработке эффективного метода получения рекомбинантного ФСГ человека. В работе изучены посттрансляционные модификации гормона и исследованы его биологические свойства с целью дальнейшего создания препарата для лечения бесплодия.

Соискатель имеет 9 опубликованных работ по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 2 работы, получен патент на изобретение. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Наиболее значимые из них следующие:

1. Монахова В.С. Метод капиллярного зонного электрофореза для анализа гликозилированного рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона / В.С. Монахова, М.Е. Сушкин, А.С. Симбирцев // Биотехнология. – 2019. – Т. 35, №4 – С. 55-64 (авторский вклад составил 60%).

2. Монахова В.С. Выбор клеточной линии для получения штамма-продуцента рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека / В.С. Монахова, Н.В. Пигарева, А.С. Симбирцев // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23, №3 – С.3-7 (авторский вклад составил 60%).

3. Патент 2697273 Российская Федерация. Способ получения рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека, клеточная линия-продуцент и плазмидные экспрессионные векторы / В.С. Монахова, Н.А. Климов, Т.В. Кудлинг, Н.В. Пигарева, М.М. Карасев, А.А. Шалджян, А.С. Симбирцев, заявл. 22.02.2019, опубл. 13.08.2019. Бюл.№ 23.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Козлова Ивана Генриховича, доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств Института профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет)» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв положительный, критических замечаний не содержит.

2. Васина Андрея Владимировича, доктора биологических наук, доцента, директора института биомедицинских систем и биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого». Отзыв положительный, содержит вопрос: «В работе было показано, что, несмотря на ряд отличий профиля гликозилирования коммерческого препарата «Гонал-Ф» и полученного образца рчФСГ, их биологическая активность была одинаковой. Означает ли это, что наблюдаемыми отличиями в препаратах можно полностью пренебречь, или они все-таки могут нести функциональную нагрузку?» На вопрос дан следующий ответ: «Аналогичные отличия профиля гликозилирования при сравнении с коммерческим препаратом «Гонал-Ф» также имели уже одобренные к применению в медицинской практике препараты-биоаналоги рчФСГ, поэтому в данном случае отличиями в структуре гликанов гормонов можно пренебречь».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, широкой известностью и достижениями в рассматриваемой области биологических наук.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан оригинальный метод получения биологически активного рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека (рчФСГ) в штамме-продуценте на основе клеток СНО и дальнейшей очистки рчФСГ; предложены методы биохимического анализа изоформ рчФСГ с помощью капиллярного электрофореза и лектиноферментного анализа; доказана способность полученного рчФСГ активировать рецептор ФСГ в модельной системе *in vitro*, а также оказывать зависимый от дозы гормона эффект увеличения массы яичников неполовозрелых крыс. Доказано, что диапазон  $rI$  изоформ полученного рчФСГ совпадает с диапазоном  $rI$  изоформ коммерческого препарата сравнения Гонал-Ф и составляет 3,9 – 5,3; введены представления о возможности создания нового отечественного биоаналога коммерческого препарата рчФСГ Гонал-Ф. Метод получения рчФСГ основан на использовании суспензионных клеточных линий СНО и экспрессионных векторов, содержащих регуляторный элемент *UCOE*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказаны положения, которые расширяют представления о структурных особенностях изоформ рчФСГ и обосновывают использование суспензионных клеточных линий СНО совместно с экспрессионными векторами, содержащими регуляторный элемент *UCOE*, для получения гормона, применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс методов биохимии и молекулярной биологии, включающий создание и культивирование штаммов-продуцентов с использованием суспензионных клеточных линий СНО в лабораторных масштабах, выделение и очистку рчФСГ из культуральной жидкости, установление его биохимических свойств методами капиллярного электрофореза и лектиноферментного анализа, определение его биологической активности *in vitro* и *in vivo*, изложены современные тенденции по использованию высокопроизводительных методов анализа гликопротеинов и получению

высокопродуктивных штаммов-продуцентов рекомбинантных белков-гетеродимеров,

раскрыты особенности структуры гликозилированных изоформ рчФСГ, свидетельствующие о потенциальной возможности использования полученного рчФСГ в качестве терапевтического средства при бесплодии, изучены биохимические свойства полученного препарата рчФСГ. Биологическая активность полученного рчФСГ совпадает с биологической активностью коммерческого препарата сравнения Гонал-Ф в экспериментах *in vitro* и *in vivo*;

проведена модернизация метода анализа сиалированных изоформ рчФСГ с помощью капиллярного зонного электрофореза, метода определения профиля гликозилирования гликопротеина с помощью лектиноферментного анализа и метода определения изоэлектрических точек изоформ гормона с помощью капиллярного изоэлектрического фокусирования.

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

разработан и внедрен оригинальный метод получения штамма-продуцента рчФСГ, способ его получения закреплен патентом Российской Федерации (№ 2697273),

определены перспективы практического использования полученного рчФСГ в качестве терапевтического препарата,

создана технология биосинтеза и очистки биологически активного рчФСГ, представлены результаты исследования, позволяющие масштабировать технологию получения рчФСГ до объемов биофармацевтического производства с целью получения отечественного препарата-биоаналога для лечения бесплодия.

Оценка достоверности результатов исследования:

результаты экспериментов получены с помощью методов, адекватных задачам исследования, количественные данные подвергнуты корректной

статистической обработке. Данные, представленные в диссертации, являются достоверными и воспроизводимыми;

теория о возможности использования экспрессионной системы, в состав которой входили клеточные линии *СНО* и экспрессионные векторы, содержащие регуляторный элемент *UCOE*, построена на известных проверенных данных, согласуется с данными, полученными ранее при исследовании других препаратов рчФСГ в различных исследовательских центрах и лабораториях;

идея базируется на анализе большого объема изученной современной отечественной и зарубежной литературы;

использованы современные программы для сбора, анализа и статистической обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в: непосредственном участии в постановке цели и задач исследования; организации и проведении экспериментов, получении исходных данных; подборе и оптимизации аналитических методик; статистической обработке и интерпретации данных, теоретическом их обобщении; апробации результатов исследования на всероссийских и международных конференциях, подготовке публикаций по выполненной работе.

На заседании 21.10.2021 диссертационный совет принял решение: за разработку технологии получения биологически активного рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека, полученного на основе суспензионных клеточных линий *СНО* при применении экспрессионных векторов, содержащих регуляторный элемент *UCOE*, присудить Монаховой В.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 25 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.4 - Биохимия (5 докторов биологических наук и 4 докторов медицинских наук),

участвовавших в заседании, из 35 человек, входивших в состав совета, проголосовали: за – 25, против - 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор



*V. Vasilenko*

Васильев В.Б.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор биологических наук

*L.K. Khnychenko*

Хныченко Л.К.

21.10.2021