

## О Т З Ы В

на автореферат диссертации **Тарасенко Ирины Викторовны**  
"Разработка растительной экспрессионной платформы для получения  
субстанций ветеринарного назначения на примере пептида M2E вируса  
гриппа птиц H5N1" представленной к защите на соискание ученой  
степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 –  
биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Птичий грипп представляет серьезную угрозу для сельского хозяйства и для здоровья людей. Это - высококонтагиозное инфекционное заболевание, способное быстро распространяться среди поголовья птиц и вызывать массовые эпизоотии. Возбудителем данной инфекции являются ортомиксовирусы, многие из которых обладают низкой патогенностью для некоторых видов перелетных птиц и могут переноситься ими на большие расстояния. Однако, ряд штаммов вируса гриппа птиц (H7N1, H5N1, H7N7 и др.) вследствие мутаций приобрел высокую патогенность и заражение этими вирусами приводит к массовым вспышкам среди домашних птиц, вызывая практически их 100% гибель. Поэтому данные вирусы по классификации OIE отнесены к карантинным инфекциям и в случае возникновения вспышки инфекции все поголовье птиц подлежит полному уничтожению. Ущерб мировому сельскому хозяйству от птичьего гриппа только за последние 10 лет составил более 30 миллиардов долларов.

Из всех циркулирующих среди птиц вирусов гриппа, вирус H5N1 представляет наибольшую опасность для людей. Зарегистрировано несколько сотен случаев заражения человека вирусом гриппа H5N1 при непосредственном контакте с инфицированными птицами, при этом 60% заболеваний заканчивались летальным исходом. Наибольшую тревогу у эпидемиологов вызывает возможность дальнейшей мутации вируса гриппа H5N1 с преодолением межвидового барьера и появлением способности передаваться от человека к человеку. В этом случае мир может ждать новая пандемия высокопатогенного гриппа с непредсказуемыми последствиями.

Наиболее эффективным способом профилактики эпидемий и эпизоотий гриппа является вакцинация. В настоящее время известно большое число разновидностей гриппозных вакцин (живые вакцины, инактивированные цельновирионные вакцины, инактивированные сплит-вакцины, инактивированные субъединичные вакцины). Всем этим вакцинным препаратам наряду с достоинствами, присущ ряд недостатков, поэтому осуществляется разработка новых перспективных вакцин на основе плазмид, рекомбинантных антигенов, наночастиц и т.д. Одной из привлекательных идей для создания противовирусных вакцин является экспрессия вирусных белков в растениях с получением так называемых "съедобных вакцин". Концепцию производства вакцин в трансгенных растениях впервые сформулировали Х. Мэйсон с соавторами в 1992 г. С тех пор был разработан ряд экспериментальных «съедобных» вакцин против вирусов гепатита В, бешенства, энтеровирусов и др. В настоящее время эти исследования

5/6

вызывают большой интерес в связи с возможностью получения принципиально новых вакцин, доступных для широкого применения.

В связи с изложенным, актуальность темы диссертации И.В. Тарасенко, посвященной разработке растительной экспрессионной платформы для получения "съедобной вакцины" против высокопатогенного вируса гриппа птиц H5N1, не вызывает сомнений, а сама работа обладает значительной научной новизной и практической значимостью.

В диссертационной работе автором был поставлен и успешно решен ряд задач: изучена возможность экспрессии пептида M2e вируса H5N1 отдельно и в трансляционном слиянии с  $\beta$ - глюкокуронидазой в стабильно трансформированных растениях; клонирована нуклеотидная последовательность субъединицы Б рицина (RTB) для использования в качестве мукозального адъюванта; получены трансгенные растения табака и ряски малой, экспрессирующие пептид M2e в трансляционном слиянии с субъединицей Б рицина; проведен количественный анализ экспрессии слитого белка RTB-M2e в трансгенных растениях табака и ряски.

В результате проведенных исследований получены новые важные результаты, имеющие как методологическую, так и практическую значимость. В частности, показана стабильная экспрессия в трансгенных растениях пептида M2e вируса гриппа птиц H5N1 в трансляционном слиянии с белком  $\beta$ -глюкуронидаза, при этом уровень накопления слитого белка пептид M2e- $\beta$ -глюкуронидаза в трансгенных растениях ряски малой составлял 0,5-0,9 мг/г сырого веса растений. Показана стабильная экспрессия пептида M2e в трансляционном слиянии с клонированной из клещевины (*Ricinus communis*) субъединицей Б рицина в трансгенных растениях табака и ряски малой. Выявлено сохранение способности рекомбинантного белка пептид M2e-субъединица Б рицина специфично связываться с гликопротеином асиалофетуином. Проведён количественный анализ экспрессии рекомбинантного белка пептид M2e-субъединица Б рицина и установлено, что накопление слитой последовательности составляет до 1,5-2,5 мкг на грамм сырой массы независимо от вида растений.

Итогом выполненной работы явилось получение линии стабильно трансформированных трансгенных растений табака и ряски, синтезирующих пептид M2e вируса гриппа птиц H5N1, слитый с  $\beta$ - глюкокуронидазой и субъединицей Б рицина. Данные линии могут быть использованы как экспрессионные платформы для получения соответствующих вакцинных белков. Полученные результаты перспективны для дальнейших исследованиях по разработке съедобной противогриппозной вакцины широкого спектра действия ветеринарного назначения.

Следует отметить высокий методологический уровень рецензируемой работы и широкий арсенал современных методов, использованных в данном исследовании. Выводы полностью соответствуют полученным результатам и хорошо обоснованы. Полученные автором результаты опубликованы в

66

отечественной и зарубежной печати и доложены на многочисленных конференциях.

В целом диссертационная работа Тарасенко Ирины Викторовны на тему "Разработка растительной экспрессионной платформы для получения субстанций ветеринарного назначения на примере пептида M2E вируса гриппа птиц H5N1" по актуальности, новизне, практической значимости, объему выполненных исследований и полученным результатам полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Руководитель отдела вирусологии Института микробиологии и вирусологии Комитета Науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

Доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент Национальной Академии Наук Республики Казахстан, заслуженный деятель Республики Казахстан

050010, РК, г. Алматы,  
ул. Богенбай-батыра, 103  
РГП ИМВ МОН РК

24.06.2016

E-mail: vberezin@nursat.kz



В.Э. Березин

подпись  
Березина В.Э.  
Заведующий  
ОК