

на выпускную квалификационную работу магистра
Малахова Ипатия Сергеевича
«Создание иммуногена против вируса папилломы человека на
основе химерного рекомбинантного белка L2E7»

Работа Малахова Ипатия Сергеевича посвящена одной из важнейших проблем современной биологии, иммунологии и медицины – проблеме создания новых вакцин против широкого спектра наиболее патогенных представителей микроорганизмов, и в частности против различных представителей онкогенных штаммов вирусов папилломы человека.

В настоящее время проводятся интенсивные исследования, направленные на изучение механизмов патогенеза вирусов папилломы человека, поиском высокоспецифических иммуногенных белков, имеющих консервативные последовательности, отличающиеся отсутствием штаммоспецифичности и создание мультивалентных вакцинных препаратов широкого спектра действия не только для предотвращения инфицирования, но и с выраженным терапевтическим эффектом уже инфицированных пациентов. Однако пока не удалось создать вакцинный препарат, который был бы эффективен в отношении всех широко распространенных штаммов вируса. В связи с этим существует острая необходимость в разработке мультивалентного универсального вакцинного препарата. В последнее время изучается возможность использования консервативных участков эпитопов белков вирусов, играющих важную роль на всех этапах развития инфекции и обладающих высокой иммуногенностью в качестве компонентов комплексных вакцинных препаратов. Перспективным считается создание рекомбинантных гибридных препаратов белков, включающих только те домены иммуногенных белков, которые соответствуют эпитопам, активирующим выработку протективных антител. Данная работа, посвящена созданию и получению и характеристике химерного белка L2E7, который содержит три N-концевых домена белка L7, имеющий консервативные участки трех различных онкогенных штаммов вируса и белок E7 двух онкогенных штаммов вируса папилломы человека.

Работа Ипатия Сергеевича написана по стандартному образцу, содержит оглавление, список сокращений, введение, цели и задачи, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение результатов, выводы, список литературы и приложение.

Обзор литературы включает общую характеристику вируса папилломы человека, краткий обзор эпидемиологии папилломавирусной инфекции, достаточно подробно описаны белки вируса: L2, капсидный белок вируса папилломы человека и вирусный протоонкоген E7. Рассмотрены современные подходы к разработке вакцины против папилломавирусной инфекции. Можно отметить, что обзор написан логично, читается с интересом и свидетельствует о хорошей ориентации Ипатия Сергеевича в современной научной литературе по изучаемой проблеме. Стоит отметить, что при переводе англоязычной литературы иногда встречаются неудачные выражения.

В разделе «Материалы и методы» представлен широкий спектр используемых в работе методов: микробиологические, молекулярно-биологические и биохимические методы. При описании методов не везде указан pH буферных растворов.

В разделе «Результаты» представлены результаты синтеза гена химерного рекомбинантного белка L2E7, создание плазмиды pGEM-T l2e7 и штамма *E.coli* DH10B/R pGEM-T l2e7, создание штамма-продуцента химерного рекомбинантного белка L2E7, к сожалению этот раздел результатов не содержит подтверждения полученных результатов в виде электрофореграмм и графиков ПЦР. В работе определено оптимальное время экспрессии и подобран индуктор гена химерного рекомбинантного белка L2E7, проведена проверка стабильности экспрессии гена *l2e7* в присутствии и отсутствии антибиотиков. В ходе выделения химерного рекомбинантного белка L2E7 определена внутриклеточная

локализация белка L2E7 в клетках штамма-производителя и проведена очистка химерного рекомбинантного белка L2E7 методом металлоаффинной хроматографии, подобраны оптимальные условия и проведен рефолдинг химерного рекомбинантного белка L2E7. Изложение результатов сопровождается восемью рисунками, одной таблицей, и тремя приложениями.

В разделе «Обсуждение результатов» особое внимание уделено молекулярному дизайну кандидатного иммуногена L2E7, обсуждается выбор индуктора гена гибридного рекомбинантного белка L2E7, процедура очистки и рефолдинга полученного химерного белка.

Выводы соответствуют полученным результатам.

Работа изложена на 84 страницах, содержит 1 таблицу, 1 схему, 14 рисунков и 3 приложения. При оформлении таблиц слово таблица с номером следует поместить справа от таблицы, до названия таблицы, а название таблицы поместить над таблицей.

Список литературы содержит 8 источников на русском и 226 на иностранном языке. Иногда автор ссылается на рекомендации фирмы производителя, хотя в них производитель ссылается на первоисточники. В ходе прочтения работы возникают вопросы:

1. Какую часть работы автор делал самостоятельно?
2. Проводили ли сравнение пространственной структуры доменов химерного белка, или предполагаемых участков эпитопов, с пространственной структурой используемых участков молекул природных белков? Есть ли какие-нибудь предположения об иммуногенности химерного белка.

Перечисленные недочеты не портят общего хорошего впечатления от представленной работы, которая является не только интересным исследованием, но и имеет важное практическое значение для создания вакцины.

Принимая во внимание все положительное и несущественные недостатки, выпускную квалификационную работу Малахова Ипатия Сергеевича «Создание иммуногена против вируса папилломы человека на основе химерного рекомбинантного белка L2E7» можно считать удачной и оценить на «отлично».

Рецензент: к.б.н., доцент каф. биохимии
биологического ф-та СПбГУ

Леонова Л.Е.