ОТЗЫВ

научного консультанта на диссертацию PhD-докторанта Баянды Гүлшат на тему:

«Получение и характеристика наноантител против вируса бешенства»,

представленную на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по образовательной программе «8D05105-Биотехнология».

Диссертационная работа посвящена решению актуальной научной задачи в области биотехнологии и молекулярной иммунологии, связанной с разработкой новых биотерапевтических средств для профилактики и контроля бешенства. Актуальность исследования обусловлена тем, что бешенство остается одной из наиболее опасных вирусных инфекций как для человека, так и для животных. Несмотря на наличие средств специфической профилактики, заболевание по-прежнему широко распространено во многих странах мира и характеризуется практически абсолютной летальностью после появления клинических признаков. Для Республики Казахстан проблема бешенства также сохраняет свою значимость вследствие существования природных очагов инфекции, периодической регистрации случаев заболевания среди животных и необходимости проведения масштабных профилактических мероприятий. В настоящее время важнейшими средствами экстренной профилактики бешенства являются антирабические иммуноглобулины. Однако их применение ограничено рядом факторов, включая высокую стоимость производства, ограниченную доступность, а также определенные риски, связанные с использованием препаратов животного и человеческого происхождения. В связи с этим разработка альтернативных иммунобиологических препаратов является одним из приоритетных направлений современных исследований.

Особый интерес в последние годы вызывают наноантитела — рекомбинантные однодоменные антитела, обладающие высокой специфичностью к антигенам, устойчивостью к внешним воздействиям, хорошей проникающей способностью и возможностью получения в различных экспрессионных системах. Благодаря этим свойствам наноантитела рассматриваются как перспективная платформа для создания новых средств диагностики и терапии инфекционных заболеваний.

Таким образом, выполненная диссертационная работа направлена на решение важной научной и практической задачи, а ее результаты обладают потенциалом для дальнейшего применения при разработке современных антирабических иммунобиологических препаратов.

В ходе выполнения диссертационной работы Баянды Гүлшат Асхатқызы проявила высокий уровень теоретической подготовки и навыков самостоятельной научно-исследовательской работы. Соискателем самостоятельно проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, сформулированы цели и задачи работы, разработан общий дизайн экспериментов и выполнен основной объем исследований. В рамках диссертационной работы Баянды Гүлшат Асхатқызы впервые сконструировала рекомбинантный тримерный антиген вируса бешенства RABV-G-XVIII на основе тримеризационного домена коллагена XVIII типа человека, осуществила его экспрессию, выделение и последующую биохимическую и иммунологическую характеристику. Автором проведены исследования иммуногенных

свойств полученного антигена и показана его способность индуцировать эффективный защитный иммунный ответ против вируса бешенства. Соискателем была создана иммунная библиотека вариабельных доменов тяжелых цепей антител дромедарных верблюдов, иммунизированных рекомбинантным антигеном RABV-G-XVIII, и с использованием технологии фагового дисплея получены высокоспецифичные наноантитела к вирусу бешенства. Баянды Гүлшат Асхатқызы самостоятельно выполнила отбор, клонирование, экспрессию и молекулярную характеристику перспективных клонов наноантител.

Особую научную ценность представляют выполненные автором работы по конструированию димерных и тримерных форм наноантител. В результате проведенных исследований было установлено, что мультимеризация наноантител приводит к существенному увеличению их аффинности к антигену и вируснейтрализующей активности. Соискателем проведены комплексные исследования биологической активности полученных молекул как *in vitro*, так и *in vivo*, в ходе которых впервые показано, что тримерные формы наноантител обеспечивают полную защиту экспериментальных животных от летальной инфекции вирусом бешенства.

Полученные результаты обладают научной новизной, теоретической и практической значимостью и свидетельствуют о существенном личном вкладе Баянды Гүлшат Асхатқызы в развитие современных биотехнологических подходов к созданию средств профилактики, диагностики и терапии бешенства.

Данные результаты подтверждают готовность Баянды Г.А. стать PhD докторантом, так как она показала, что обладает необходимыми теоретическими знаниями и владеет многими методами работы в областях генной инженерии, молекулярной биологии и биохимии.

Важно отметить что, диссертационная работа имеет огромное теоретическое и практическое значение, которые были отражены в 8 печатных работах, в том числе 1 статьи с ненулевым импакт-фактором входящий в базу данных Web of Science или Scopus, 3 статей в республиканских научных изданиях, рекомендуемых ККСОН МОН РК, и 4 тезисов в материалах международных конференций.

Считаю, что рассматриваемая диссертационная работа соответствует всем требованиям для PhD докторской диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD). Данная диссертация полностью готова для защиты.

Научный консультант:
PhD, профессор института

Густава Русси (Вильжюиф, Франция) **Сапарбаев М.К.**

UMR9019 CNRS
INTEGRITE DU GENOME ET CANCERS
GUSTAVE ROUSSY
Pavillon de Recherche 2
114 rue Edouard Vaillant
94805 VILLEJUIF CEDEX
Tél. : 01 42 11 51 18/42 35

«8D05105 – Биотехнология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылған PhD докторант Баянды Гүлшаттың «Құтыру вирусына қарсы наноантиденелерді алу және сипаттау» тақырыбындағы диссертациялық жұмысына ғылыми консультанттың

ПІКІРІ

Диссертациялық жұмыс биотехнология және молекулалық иммунология саласындағы өзекті ғылыми мәселені шешуге, құтырудың алдын алу және оны бақылауға арналған жаңа биотерапиялық құралдарды әзірлеуге бағытталған. Зерттеу тақырыбының өзектілігі құтырудың адам мен жануарлар үшін аса қауіпті вирустық инфекциялардың бірі болып қалуымен байланысты. Арнайы профилактикалық құралдардың болуына қарамастан, бұл ауру әлемнің көптеген елдерінде әлі де кең таралған және клиникалық белгілері пайда болғаннан кейін өлім-жітім көрсеткіші іс жүзінде 100%-ға жуықтайды. Қазақстан Республикасы үшін де құтыру мәселесі өз маңызын жоғалтқан жоқ. Бұл инфекцияның табиғи ошақтарының сақталуына, жануарлар арасында ауру жағдайларының кезең-кезеңімен тіркелуіне және ауқымды профилактикалық іс-шараларды жүргізу қажеттілігіне байланысты. Қазіргі уақытта құтырудың шұғыл профилактикасында антирабиялық иммуноглобулиндер маңызды құралдардың бірі болып табылады. Алайда оларды қолдану өндіріс құнының жоғарылығы, қолжетімділігінің шектеулілігі, сондай-ақ жануарлар мен адамнан алынатын препараттарды пайдалануға байланысты белгілі бір қауіптер сияқты бірқатар факторлармен шектеледі. Осыған байланысты баламалы иммунобиологиялық препараттарды әзірлеу қазіргі заманғы ғылыми зерттеулердің басым бағыттарының бірі болып табылады.

Соңғы жылдары антигендерге жоғары спецификалық қасиетімен, сыртқы әсерлерге тұрақтылығымен, жақсы ену қабілетімен және әртүрлі экспрессиялық жүйелерде алу мүмкіндігімен ерекшеленетін рекомбинантты бірдоменді антиденелер болып табылатын наноантиденелерге ерекше қызығушылық артып келеді. Осы қасиеттерінің арқасында наноантиденелер инфекциялық ауруларды диагностикалау мен емдеуге арналған жаңа құралдарды әзірлеудің перспективалы платформасы ретінде қарастырылады. Орындалған диссертациялық жұмыс маңызды ғылыми және практикалық міндетті шешуге бағытталған, ал алынған нәтижелер заманауи антирабиялық иммунобиологиялық препараттарды әзірлеуде одан әрі қолдану үшін әлеуетке ие.

Диссертациялық жұмысты орындау барысында Баянды Гүлшат Асхатқызы жоғары деңгейдегі теориялық дайындығын және ғылыми-зерттеу жұмыстарын өз бетінше жүргізу дағдыларын көрсетті. Ізденуші зерттеу тақырыбы бойынша заманауи отандық және шетелдік әдебиеттерге өз бетінше талдау жүргізіп, жұмыстың мақсаты мен міндеттерін тұжырымдады, эксперименттердің жалпы дизайнын әзірледі және зерттеу жұмыстарының негізгі бөлігін орындады.

Диссертациялық жұмыс аясында Баянды Гүлшат Асхатқызы алғаш рет адамның XVIII типті коллагенінің тримерлену домені негізінде құтыру вирусының RABV-G-XVIII рекомбинантты тримерлі антигенін құрастырып, оның экспрессиясын, бөліп алуды және кейінгі биохимиялық әрі иммунологиялық сипаттамасын жүргізді. Автор алынған антигеннің иммуногендік қасиеттерін зерттеп, оның құтыру вирусына қарсы тиімді қорғаныш иммундық жауап қалыптастыру қабілетін көрсетті Ізденуші RABV-G-XVIII рекомбинантты антигенімен иммундау жүргізілген дромедар түйелерінің антиденелерінің ауыр тізбектерінің вариабельді домендерінің иммундық кітапханасын құрастырды және фагтық дисплей технологиясын қолдану арқылы құтыру вирусына жоғары спецификалық наноантиденелер алды. Баянды Гүлшат Асхатқызы перспективалы наноантидене клондарын іріктеу, клондау, экспрессиялау және молекулалық сипаттау жұмыстарын өз бетінше орындады.

Автордың наноантиденелердің димерлі және тримерлі формаларын құрастыру бойынша жүргізген жұмыстары ерекше ғылыми құндылыққа ие. Зерттеу нәтижесінде

наноантиденелерді мультимерлендіру олардың антигенге аффинділігінің және вирусты бейтараптандыру белсенділігінің айтарлықтай артуына алып келетіні анықталды. Ізденуші алынған молекулалардың биологиялық белсенділігіне *in vitro* және *in vivo* жағдайларында кешенді зерттеулер жүргізді. Зерттеу барысында наноантиденелердің тримерлі формалары эксперименттік жануарларды құтыру вирусының өлімге әкелетін инфекциясынан толық қорғауды қамтамасыз ететіні алғаш рет көрсетілді. Алынған нәтижелер ғылыми жаңалығымен, теориялық және практикалық маңыздылығымен ерекшеленеді және Баянды Гүлшат Асхатқызының құтырудың алдын алу, диагностикалау және емдеуге арналған құралдарды әзірлеудегі заманауи биотехнологиялық тәсілдерді дамытуға қосқан елеулі жеке үлесін көрсетеді.

Алынған нәтижелер Баянды Г.А.-ның философия докторы (PhD) дәрежесін алуға қажетті ғылыми даярлық деңгейіне ие екенін дәлелдейді. Диссертациялық жұмысты орындау барысында ол гендік инженерия, молекулалық биология және биохимия салаларында қажетті теориялық білімге ие екенін және көптеген заманауи зерттеу әдістерін меңгергенін көрсетті.

Диссертациялық жұмыстың жоғары теориялық және практикалық маңызға ие екенін ерекше атап өткен жөн. Зерттеу нәтижелері 8 ғылыми еңбекте жарияланған, оның ішінде Web of Science немесе Scopus деректер базасына енгізілген, импакт-факторы нөлден жоғары журналда 1 мақала, Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Білім және ғылым саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған республикалық ғылыми басылымдарда 3 мақала және халықаралық ғылыми конференциялар материалдарында 4 тезис жарияланған.

Қарастырылып отырған диссертациялық жұмыс философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылатын докторлық диссертацияларға қойылатын барлық талаптарға сәйкес келеді деп есептеймін. Диссертациялық жұмыс қорғауға толық дайын.

Ғылыми консультант:

PhD, Густав Русси институтының
профессоры (Вильжюиф, Франция) ***/қолы қойылған/*** Сапарбаев М.К.
/мөр бар/