

РЕЦЕНЗИЯ
на магистерскую диссертацию
студентки кафедры биохимии Санкт-Петербургского государственного
университета О. А. Добровольской на тему
«Создание иммуногена на основе белка TB10.4 *Mycobacterium tuberculosis*»

Магистерская диссертация О. А. Добровольской посвящена получению рекомбинантного белка TB10.4 и предварительной оценке его протективных свойств на мышиной модели туберкулезной инфекции. Автором проведена кодонная оптимизация последовательности, кодирующей белок TB10.4, проведен синтез нуклеотидной последовательности, получена экспрессионная конструкция на основе вектора pET-28a(+), отработаны методы накопления рекомбинантного белка в штамме *E.coli* BL21, очистки белков хроматографическими методами, а также охарактеризована протективность белка TB10.4 при введении лабораторным мышам с последующим заражением *Mycobacterium tuberculosis*. Работа имеет большое практическое значение, поскольку полученный рекомбинантный белок может быть использован для создания безопасной вакцины против туберкулеза. Распространение туберкулеза в Российской Федерации - одна из острых проблем здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения заболеваемость туберкулезом в России составляет 114 человек на 100 000 населения, а смертность около 12 на 100 000 населения.

Работа написана по стандартной схеме и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, и завершается выводами, списком использованной литературы (из 112 источников, в основном англоязычных) и приложениями. Объем работы – 85 страниц, работа содержит три таблицы и проиллюстрирована 19 рисунками.

Работа производит благоприятное впечатление, практически полностью соответствует требованиям к оформлению магистерских диссертаций. Цель и задачи четко сформулированы, логично следуют из хорошо написанного короткого, но, в то же время, емкого введения.

В обзоре литературы автор использовал новейшие публикации по теме работы. Подробно описаны история открытия возбудителя туберкулеза, строение генома *Mycobacterium tuberculosis*, приведена биохимическая характеристика микобактерий, рассмотрены свойства белка патогенез и способы профилактики туберкулезной инфекции. Особое внимание уделено современным подходам к разработке противотуберкулезных вакцин, подробно рассмотрены существующие кандидатные вакцины против туберкулеза. Отдельно освещены литературные данные по получению рекомбинантного белка TB10.4 в экспрессионных системах на основе *E. coli*. Внушительный литературный обзор производит очень хорошее впечатление, позволяя даже неспециалисту получить представление об объекте исследования.

Раздел «Материалы и методы» написан обстоятельно, но не без излишней детализации, зачастую присущей студенческим работам.

В разделе «Результаты» автор демонстрирует понимание использованных им методов и способность к интерпретации полученных данных. При подготовке раздела «Результаты» научной работы приветствуется краткое описание хода или особенностей эксперимента непосредственно перед описанием полученных данных. Однако вместо краткого и емкого описания сути эксперимента, автор в большей части подразделов главы «Результаты» практически дословно повторяет написанное в «Материалах и методах».

Так, например, в подразделе 4.3. «Создание штамма-продуцента рекомбинантного белка ТВ10.4» на с. 50 автор повторяет даже состав реакционного буфера для проведения секвенирования (см. с. 35). Повторы текста ухудшают общее впечатление от работы, но, тем не менее, не снижают её научной ценности.

В разделе 4.6. «Оценка протективного эффекта кандидатной вакцины на основе полученного рекомбинантного белка ТВ10.4» автор описывает экспериментальные группы мышей для эксперимента по иммунизации и в табл. 3 приводит состав инъекционных смесей для данных групп. А на рис. 15-17, где приведены полученные в ходе эксперимента данные, количество экспериментальных групп варьирует от 5 до 7. Таким образом, в данном разделе отсутствует описание контрольных групп, что затрудняет восприятие и осмысление полученных результатов.

Цель работы достигнута, а сделанные выводы, в целом, соответствуют поставленным задачам. Следует отметить, что формулировка выводов представляется излишне детализированной.

После ознакомления с текстом магистерской диссертации возникает ряд вопросов:

- 1) чем обусловлен выбор t-критерия Стьюдента для анализа полученных данных?
Насколько корректным является использование t-критерия для таких данных, как массовые коэффициенты органов, выраженные в условных единицах?
- 2) каким образом автор проводил кодонную оптимизацию?

Объем выполненной экспериментальной работы колоссален, и магистерская диссертация О. А. Добровольской приближается по этому параметру к кандидатской диссертации. В целом работа соответствует требованиям, предъявляемым к магистерским диссертациям, и, несмотря на все замечания, заслуживает оценки «отлично», а О. А. Добровольская – присуждения степени магистра.

/А. Б. Комиссаров/

с. н. с. лаб. молекулярной вирусологии и генной инженерии
ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России,
асс. каф. биохимии биологического факультета СПбГУ

Подпись Комиссарова ЗАВЕРЯЮ
Ученый секретарь
ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России
Лобова Т.Г.



Лобов

Подпись Комиссарова А.Б.
Удостоверяю, Бойкова Т.Г.
Нач-к о.к. Бойкова Т.А.
"II" июня 2015 года