

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.020.02 созданного на
базе ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В
СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 26.04.2019 № 2

О присуждении Боробовой Елене Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка и изучение свойств искусственных полиэпитопных антигенов меланомы» по специальности 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите 15.02.2019 г. (протокол заседания № 1) диссертационным советом Д 208.020.02 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, приказ 12.04.2018 № 403/нк.

Соискатель Боробова Елена Александровна, 1988 года рождения, в 2011 г. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по специальности «медицинская биохимия».

В 2014 году соискатель освоила программу подготовки научных кадров в аспирантуре ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, работает научным сотрудником в отделе биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Диссертация выполнена в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Научные руководители:

Ильичев Александр Алексеевич, доктор биологических наук, профессор, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, отдел биоинженерии, заведующий отделом;

Антонец Денис Викторович, кандидат биологических наук, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, теоретический отдел, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Коваленко Сергей Петрович, доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ ФИЦ ФТМ «НИИ экспериментальной и клинической медицины», лаборатория молекулярной генетики, заведующий лабораторией;

Семенов Дмитрий Владимирович, кандидат химических наук, ФГБУН «ИХБФМ СО РАН», лаборатория биотехнологии, старший научный сотрудник дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанном Иванисенко Владимиром Александровичем, кандидатом биологических наук, ведущим научным сотрудником, заведующим лабораторией компьютерной протеомики, и утвержденном Кочетовым Алексеем Владимировичем, доктором биологических наук, член-корреспондентом РАН, директором, указали, что диссертация Бороновой Елены Александровны является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по конструированию и изучению биологической активности ДНК-конструкций, кодирующих искусственные полиэпитопные антигены меланомы. По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного

Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, по теме диссертации опубликовано 15 работ, 3 из которых входят в перечень ВАК и международные научные базы, по теме диссертации получены два патента РФ.

1. Vorobova E.A., Antonets D.V., Starostina E.V., Karpenko L.I., Ilyichev A.A., Bazhan S.I. Design of Artificial Immunogens Containing Melanoma-associated T-cell Epitopes // Current Gene Therapy – 2018. – Т. 18. – №12. doi.org/10.2174/1566523218666181113112829

2. Боробова Е.А., Жеравин А.А. Иммуноterapia меланомы // Сибирский онкологический журнал. – 2017. – Т. 4. – № 16. – С. 65–75.

3. Антонец Д.В., Боробова Е.А., Ильичёв А.А., Карпенко Л.И., Орешкова С.Ф., Смирнова О.Ю., Старостина Е.В., Бажан С. И. Искусственный ген MEL-TSI, кодирующий полиэпитопный белок-иммуноген MEL-TSI, рекомбинантная плазмидная ДНК pMEL-TSI, обеспечивающая экспрессию искусственного гена MEL-TSI и искусственный белок-иммуноген MEL-TSI, содержащий CTL- и Th-эпитопы антигенов меланомы, рестриктированные множественными аллелями HLA I и II класса. Патент РФ № 2650872 от 17.04.2018.

4. Антонец Д.В., Бажан С.И., Ильичёв А.А., Карпенко Л.И., Боробова Е.А., Старостина Е.В., Смирнова О.Ю., Орешкова С.Ф. Искусственный ген MEL-TSI-A0201, кодирующий полиэпитопный белок-иммуноген MEL-TSI-A0201, рекомбинантная плазмидная ДНК pMEL-TSI-A0201, обеспечивающая экспрессию искусственного гена MEL-TSI-A0201 и искусственный белок-иммуноген MEL-TSI-A0201, содержащий множественные CTL- и Th-эпитопы антигенов меланомы. Патент РФ № 252283 от 21.05.2014.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от д-ра мед. наук Лебедева Л.Р. (ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, зав. лабораторией нуклеиновых кислот и рекомбинантных

белков) – отзыв полностью положительный; от канд. мед. наук Жеравина А.А. (ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина», руководитель центра онкологии и радиотерапии) – отзыв положительный, содержит замечания оформительного характера; от канд. биол. наук Карташова М.Ю. (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, старший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов) – отзыв полностью положительный; от канд. биол. наук Бакулиной А.Ю. (ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», зав. лабораторией структурной биоинформатики и молекулярного моделирования) – отзыв положительный, содержит замечания оформительного характера и относительно интерпретации результатов исследования; от канд. биол. наук Лашина С.А. (ФГБНУ «ФИЦ ИЦиГ СО РАН», и.о. зав. сектором компьютерного анализа и моделирования биологических систем, ведущий научный сотрудник) – отзыв положительный, содержит замечания о неточности описания причины выбора пула синтетических пептидов и интерпретации полученных результатов; от канд. биол. наук Сайк О.В. (ФГБНУ «ФИЦ ИЦиГ СО РАН», лаборатория компьютерной протеомики, младший научный сотрудник) – положительный, содержит замечания, связанные с краткостью описания принципа работы программного обеспечения TEpredict/PolyCTLDesigner.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в области молекулярной биологии и иммунологии, большим количеством публикаций в этой области, высоким профессионализмом и согласием на оппонирование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

– разработан новый методический подход к конструированию искусственных полиэпитопных иммуногенов MEL-TCI и MEL-A0201, содержащих множественные цитотоксические и хелперные эпитопы опухолевых антигенов меланомы;

– предложена усовершенствованная методика для оценки специфической активности сконструированных ДНК-конструкций pMEL-A0201 и pMEL-TCl с использованием моноклеаров периферической крови человека в системе *ex vivo*;

– доказана перспективность технологии конструирования искусственных полиэпитопных ДНК-вакцин, индуцирующих высокие уровни ответа цитотоксических Т-лимфоцитов, против неопластических заболеваний на примере конструирования ДНК-вакцины против меланомы;

– введены понятия «универсальный» и «аллелеспецифический» варианты полиэпитопных Т-клеточных антигенов для обозначения двух разных подходов к созданию противораковых вакцин.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

– доказана перспективность использования компьютерных методов, в частности, программного обеспечения TEpredict/PolyCTLDesigner, для проектирования искусственных полиэпитопных иммуногенов;

– применительно к проблематике диссертации результативно использован обширный комплекс современных методов биоинформатики и молекулярной биологии, включая методы дизайна аминокислотных последовательностей полиэпитопных антигенов, методы оптимизации генно-инженерных конструкций, методы индукции и оценки Т-клеточного ответа и т.д.

– изложены доказательства того, что искусственные иммуногены обладают способностью индуцировать цитотоксический ответ против клеток меланомы;

– раскрыты проблемы, связанные со стратегией конструирования искусственных Т-клеточных антигенов, перспективных для иммунотерапии онкологических заболеваний;

– изучены иммуногенные свойства спроектированных антигенов, показано, что индуцируемый ими ответ эффекторных Т-лимфоцитов является важным звеном клеточного иммунитета против клеток меланомы;

– проведена модернизация методики оценки специфической активности сконструированных ДНК-конструкций pMEL-A0201 и pMEL-TCl с помощью

методов внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) и определения фермента ЛДГ.

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

– разработаны, оптимизированы и внедрены в практику лаборатории рекомбинантных вакцин ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора протоколы выделения и культивирования моноклеарных клеток периферической крови;

– определены перспективы практического использования созданных иммуногенов для конструирования кандидатных терапевтических вакцин в иммунотерапии онкологических заболеваний;

– созданы ДНК-конструкции pMEL-A0201 и pMEL-TCl для дальнейшего использования в качестве ДНК-вакцины против меланомы;

– представлены рекомендации по получению зрелых дендритных клеток из моноцитов периферической крови доноров с использованием коктейля цитокинов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

– для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании с использованием современных молекулярно-биологических и иммунологических методов исследования, воспроизводимость результатов подтверждалась несколькими повторами с адекватными контролями;

– теория конструирования полиэпитопных иммуногенов, содержащих множественные цитотоксические и хелперные эпитопы антигенов раковых клеток, основана на последних достижениях молекулярной иммунологии в области процессинга и презентации Т-клеточных антигенов по пути МНС I и II классов;

– идея диссертационной работы базируется на обобщении практических данных в области разработки терапевтических вакцин против онкологических заболеваний;

– использованы данные более 180 научных работ для составления литературного обзора и сопоставления с ними полученных автором результатов;

– использованы современные методы биоинформатики для теоретического дизайна полиэпитопных антигенов;

– установлена достоверность авторских результатов по итогам независимой государственной экспертизы, проводимой по проекту «Доклинические исследования ДНК-вакцины против меланомы» в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», а также по публикациям и патентами РФ.

Личный вклад соискателя состоит в:

непосредственном участие соискателя в планировании экспериментов, разработке стратегии исследования. Все основные эксперименты, включая конструирование и наработку рекомбинантных плазмид, изучение их биологической активности и иммуногенности в системе *ex vivo*, выполнены автором лично.

На заседании 26.04.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Боробовой Е.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человека, из них 6 докторов наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, биологические науки, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 19 , против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета

Ученый секретарь

диссертационного совета

26.04.2019 г.



Агафонов Александр Петрович

Зубавичене Наталья Маратовна