

УТВЕРЖДАЮ:

И. о. генерального директора

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

канд. мед. наук, доцент

В.Н. Михеев

2015 г.



### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального бюджетного учреждения науки  
«Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»

Диссертация «Пептиды-имитаторы эпитопов ВИЧ-1, узнаваемых нейтрализующими антителами широкого спектра действия» выполнена в отделе биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

В период подготовки диссертации соискатель Чикаев Антон Николаевич работал в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» в отделе биоинженерии в должности младшего научного сотрудника.

В 2010 г. окончил Новосибирский государственный университет по специальности «Биология» со специализацией «Цитология и генетика».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов № 321 выдано 02.02.2015 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор».

Научный руководитель: д-р биол. наук, профессор Ильичев Александр Алексеевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», отдел биоинженерии, заведующий отделом.

По итогам обсуждения принято следующее заключение: диссертация, выполненная Чикаевым А.Н. «Пептиды-имитаторы эпитопов ВИЧ-1, узнаваемых нейтрализующими антителами широкого спектра действия», является самостоятельной законченной работой, посвященной получению с помощью технологии фагового дисплея антигенов-миметиков, узнаваемых тремя нейтрализующими ВИЧ-1 антителами широкого спектра действия IgG1b12, Z13e1 и VRC01, и изучению их антигенных и иммуногенных свойств. По своей актуальности, новизне полученных результатов и ценности для науки и практики

диссертация Чикаева А.Н. соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Все основные эксперименты, включая аффинную селекцию с использованием фаговых пептидных библиотек, выделение и очистку фаговой ДНК, иммуоблоттинг, иммунизацию лабораторных животных, оценку способности пептидов-имитаторов подавлять нейтрализующую активность антител VRC01, IgG1b12 в реакции конкурентного ингибирования, выполнены автором лично. Оценка вируснейтрализующей активности сывороток иммунизированных животных с использованием env-псевдотипированных частиц ВИЧ-1 проводилась совместно с Щербаковой Н.С. и Шаламовой Л.А. (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»). Компьютерный анализ, включавший построение моделей пептидов-миметиков, молекулярный докинг и определение соответствия между отобранными последовательностями пептидов и антигеном gp120 путем наложения смоделированных структур пептидов на комплекс VRC01-gp120, был выполнен канд. биол. наук Бакулиной А.Ю., теоретический отдел ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Регрессионный анализ данных по вируснейтрализующей активности антисывороток выполнен совместно с канд. биол. наук Антоном Д.В., теоретический отдел ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

Степень достоверности результатов проведённых исследований. Результаты получены с использованием современных молекулярно-биологических, микробиологических и иммунологических методов исследования и сертифицированного оборудования. Качество проведенных экспериментов подтверждалось контрольными образцами и повторами. Выводы основаны на достаточном экспериментальном материале и являются логическим завершением диссертационной работы.

Научная новизна работы. В ходе исследования с помощью аффинной селекции из фаговых библиотек отобраны клоны, содержащие пептиды, специфично взаимодействующие с нейтрализующими антителами широкого спектра действия Z13el, IgG1b12 и VRC01. Продемонстрирована способность пептидов, выявленных в составе отобранных фагов, специфично взаимодействовать с исследуемыми антителами. Впервые установлено, что пептиды, входящие в состав отобранных бактериофагов, способны конкурировать с ВИЧ-1 (штамм NL4-3) за связывание с антителами IgG1b12 и VRC01 в реакции вируснейтрализации. Впервые показано, что пептиды, отобранные против МКА VRC01, по крайней мере, частично имитируют фрагмент CD4-связывающий петли. Впервые установлено, что сыворотки кроликов, иммунизированных фагами, несущими найденные в работе пептиды обладают нейтрализующей активностью в отношении env-псевдотипированных вирусных клонов, полученных на основе ВИЧ-1 субтипов А, В, AG.

Практическая значимость работы. Полученные в результате работы пептиды-имитаторы являются тем материалом, на основе которого можно рассчитывать и конструировать искусственные иммуногены для создания вакцины против ВИЧ-1. Создание эффективных средств профилактики ВИЧ-инфекции, в частности эффективной вакцины, будет способствовать снижению риска заболеваемости населения СПИДом. Как следствие, это приведет к снижению смертности населения, к уменьшению затрат государства на лечение ВИЧ-инфицированных. Кроме того, пептиды можно будет использовать для разработки диагностических систем для выявления антител к ВИЧ-1.

Специальность: 03.01.03 – молекулярная биология

Диссертационная работа соответствует специальности молекулярная биология, п. 7 «Генная, белковая и клеточная инженерия».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. По результатам работы опубликованы 4 статьи в журналах из списка ВАК, рекомендованных для защиты диссертаций.

1. Chikaev A.N., Bakulina A.Yu., Burdick R.C., Karpenko L.I., Vinay K.P., Ilyichev A.A. Selection of peptide mimics of HIV-1 epitope recognized by neutralizing antibody VRC01 // PLOS ONE – 2015. – doi: 10.1371/journal.pone.0120847.

2. Чикаев А.Н., Пирожкова Д.С., Бакулина А.Ю., Федина Н.В., Карпенко Л.И., Ильичев А.А. Поиск пептидов-имитаторов эпитопов ВИЧ-1, узнаваемых вирус-нейтрализующими антителами VRC01// Вестник НГУ Серия: Биология, клиническая медицина. – 2013. – №2. – С. 13-19.

3. Щербакова Н.С., Чикаев А.Н., Карпенко Л.И., Ильичев А.А. Влияние биотинилирования антител 2F5 на отбор пептидов из комбинаторной фаговой библиотеки // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 2012. – № 1. – С.20-25.

4. Чикаев А.Н., Щербакова Н.С., Карпенко Л.И., Бажан С.И., Лебедев Л.Р., Ерошкин А.М., Рыжиков А.Б., Ильичев А.А. Разработка искусственных полиэпитопных В-клеточных иммуногенов в качестве вакцин против ВИЧ-1 // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2011. – № 3, ч.1. – С.229-232.

Кроме того, результаты работы были представлены на следующих конференциях:

1. Ильичев А.А., Чикаев А.Н., Щербаков Д.Н., Федина Н.В., Бакулина А.Ю., Карпенко Л.И. Использование фаговых пептидных библиотек для изучения эпитопов, узнаваемых нейтрализующими ВИЧ-1 антителами широкого спектра действия Z13e1, VRC03 и VRC01 // В сборнике: «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности». Материалы международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 23-25 апреля, 2013 – Том I. – С.7-14.

2. Чикаев А.Н., Федина Н.В., Карпенко Л.И., Ильичев А.А. Получение имитаторов эпитопов, узнаваемых вирус-нейтрализующими моноклональными антителами b12, Z13e1 и VRC-01, для создания вакцины против ВИЧ-1 // Гигиенические аспекты в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения (Сборник статей, посвященных 90-летию государственной санитарно-эпидемиологической службы РФ). – Новосибирск, 2012 – С. 393 – 400.
3. Федина Н.В., Чикаев А.Н. Поиск пептидов-имитаторов, узнаваемых широко нейтрализующими ВИЧ-1 антителами b12 // Теоретические и прикладные проблемы науки и образования в 21 веке. Сборник научных трудов по материалам Международной заочной научно-практической конференции 31 января 2012. – Тамбов – 2012. – С. 149-150.
4. Чикаев А.Н., Щербакова Н.С., Карпенко Л.И., Бажан С.И., Лебедев Л.Р., Ерошкин А.М., Рыжиков А.Б., Ильичев А.А. Разработка искусственных полиэпитопных В-клеточных иммуногенов в качестве вакцин против ВИЧ-1 // II Межрегиональная научно-практическая конференция молодых ученых «Человек: здоровье и экология», – Иркутск, 15-16 сентября 2011 г. – С.9.
5. Щербакова Н.С., Карпенко Л.И., Чикаев А.Н., Бажан С.И., Лебедев Л.Р., Ерошкин А.М., Рыжиков А.Б., Ильичев А.А. Полиэпитопный подход для разработки искусственных В-клеточных иммуногенов в качестве ВИЧ-1 вакцин // (17-19 ноября 2010 г., Новосибирск): Сборник трудов. – Новосибирск: ЦЭРИС, 2010. – С.169 – 172.
6. Карпенко Л.И., Бажан С.И., Лебедев Л.Р., Каплина О.Н., Щербакова Н.С., Даниленко Е.Д., Даниленко А.В., Чикаев А.Н., Богрянцева М.П., Масычева В.И., Нечаева Е.А., Ильичев А.А. Разработка кандидатных вакцин против ВИЧ/СПИД в ГНЦ ВБ «Вектор» // (17-19 ноября 2010 г., Новосибирск): Сборник трудов. – Новосибирск: ЦЭРИС, 2010. – С.95-103.
7. Чикаев А.Н., Щербакова Н.С. Имитаторы конформационного эпитопа ВИЧ-1, узнаваемого МКА 2g12 // Под ред. В.А. Козлова, С.В. Смирновой, В.Т. Манчука – Абакан: Издательство ГОУ ВПО «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова», 2011. – С.177 – 178.
8. Ilyichev A., Shcherbakova N., Chikaev A., Karpenko L. Mimics of B-cell epitopes for designing of HIV-1 vaccine candidates // BIT Life sciences' 2<sup>nd</sup> Annual World Vaccine 2010 (Beijing), Abstract book, – P.203.
9. Chikaev A.N., Shcherbakova N.S., Tumanova O.Y., Ilyichev A.A. Mimics of B-cell epitopes recognized by broadly neutralizing mAb 2g12 for designing HIV-1 vaccine // AIDS Vaccine 2010 (Atlanta, Georgia) abstract book. – 2010. – P. 257.

10. Chikaev A, Scherbakova N, Tumanova O, Karpenko L, Ilyichev A. Recombinant proteins carrying peptide mimics of HIV-1 // *Retrovirology*. 2009; 6 (Suppl 3): P333. Published online 2009 October 22. doi: 10.1186/1742-4690-6-S3-P333. PMID: PMC2767841

11. Щербакова Н.С., Чикаев А.Н., Туманова О.Ю., Карпенко Л.И., Ильичев А.А. Функциональные имитаторы антигенных детерминант ВИЧ-1 для конструирования В-клеточных иммуногенов // III Конференция по вопросам ВИЧ/СПИДа в Восточной Европе и Центральной Азии, 28-30 октября 2009, Москва, Россия. С. 131.


12. Ильичев А.А., Карпенко Л.И., Козлова Н.С., Ильичева Т.Н., Антонен Д.В., Чикаев А.Н., Бажан С.И. Современные технологии конструирования вакцины против ВИЧ-1, разрабатываемые во ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» // Сборник докладов и материалов «Рабочее совещание по рассмотрению хода выполнения распоряжения правительства Российской Федерации № 1905-р.». Цэрис: Новосибирск, 2009. – С. 88-92.

13. Чикаев А.Н., Козлова Н.С., Ильичев А.А. Рекомбинантные белки, несущие имитаторы эпитопов ВИЧ-1 // XLVII Международная научная студенческая конференция "Студент и научно-технический прогресс", 11-15 апреля 2009, г. Новосибирск, Россия. – С.151.

Диссертация «Поиск пептидов-имитаторов эпитопов ВИЧ-1, узнаваемых нейтрализующими антителами широкого спектра действия» Чикаева Антона Николаевича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Заключение принято на заседании объединённого научного семинара Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»

Присутствовало на заседании 29 чел. Результаты открытого голосования: за – 29; против – нет; воздержавшихся – нет, протокол № 50 от 19 декабря 2014 г.

\_\_\_\_\_  


**Локтев Валерий Борисович**  
д-р биол. наук, профессор  
председатель научного семинара

\_\_\_\_\_  


**Кононова Юлия Владимировна**  
канд. биол. наук  
секретарь научного семинара