

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 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  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 25.06.2021 № 8

О присуждении Ляпуновой Натальи Андреевны, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Особенности репродукции вируса клещевого энцефалита в перевиваемых линиях клеток диких млекопитающих – резервуарных и случайных хозяев вируса» по специальности 03.02.02 – вирусология принята к защите 08.04.2021 г., (протокол № 2), 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 – Ляпунова Наталья Андреевна, 1993 года рождения, в 2015 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет», работает младшим научным сотрудником в лаборатории трансмиссивных инфекций ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Диссертация выполнена в лаборатории трансмиссивных инфекций в ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Научный руководитель:

Хаснатинов Максим Анатольевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Научный консультант:

Данчинова Галина Анатольевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории трансмиссивных инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Официальные оппоненты:

Пахарукова Мария Юрьевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов. ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН», Чичерина Галина Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патологии насекомых ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора, г. Тюмень, в своем положительном заключении, подписанном Беляевой Маргаритой Ивановной, доктором биологических наук, руководителем лаборатории экологического мониторинга природноочаговых паразитозов ФБУН ТНИИКИН Роспотребнадзора и утвержденном Степановой Татьяной Федоровной, доктором медицинских наук, профессором, директором ФБУН ТНИИКИН Роспотребнадзора указали, что диссертация Ляпуновой Натальи Андреевны является научно-квалификационной работой, в которой выявлены особенности динамики основных стадий репродукции ВКЭ в клетках резервуарных и случайных хозяев, проведена их сравнительная оценка и показана адаптация ВКЭ к этим разным млекопитающим. Полученные результаты имеют значение для понимания картины адаптации клещевых флавивирусов к различным хозяевам, лучшего понимания функционирования природных очагов и в целом развития вирусологии. Проведенное исследование бесспорно актуально, содержит новизну, имеет теоретическую и практическую значимость, является самостоятельным, законченным исследованием, соответствует специальности 03.02.02 – вирусология (биологические науки) и требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к

диссертациям на соискание степени кандидата наук, а ее автор Ляпунова Н.А. заслуживает присуждения искомой ученой степени - кандидат биологических наук.

Соискатель имеет 31 опубликованную работу, в том числе по теме диссертации 8 работ, из них статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 5, автором получено 3 свидетельств о регистрации баз данных и программ ЭВМ и 1 патент РФ на полезную модель.

Основные статьи по теме диссертации:

1. Применение метода ПЦР в реальном времени для диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами / А. В. Ляпунов, М. А. Хаснатинов, Э. Л. Манзарова, Н. А. Болотова [и др.] // Бюл. ВНИЦ СО РАМН. – 2016. – Т. 1, № 6 (112). – С. 161–166. – DOI: 10.12737/23810.
2. Replication of RNA of tick-borne encephalitis virus in new transferable cell lines of the natural host *Apodemus peninsulae* / M. A. Khasnatinov, N. A. Bolotova, K. S. Milovidov [et al.] // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. – 2018. – Vol. 33, N 1. – P. 49–54. – DOI: 10.3103/S0891416818010068.
3. Novel cell line derived from natural host *Apodemus peninsulae* for in-vitro studies of tick-borne encephalitis virus / M. Khasnatinov, N. Liapunova, I. Solovarov, G. Danchinova // International Journal of Infectious Diseases. – 2019. – Vol. 79, N S1. – P. 138. – DOI: 10.1016/j.ijid.2018.11.338.
4. Ляпунова, Н. А. Оптимизация методики количественной ОТ-ПЦР для оценки концентрации геномной +РНК вируса клещевого энцефалита / Н. А. Ляпунова, М. А. Хаснатинов, Г. А. Данчинова // Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – Т. 4, № 5. – С. 116–121. – DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.18.
5. Ляпунова, Н. А. Особенности репродукции вируса клещевого энцефалита в новой перевиваемой линии клеток сибирской ночницы *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905) / Н. А. Ляпунова, М. А. Хаснатинов, Г. А. Данчинова // Acta Biomedica Scientifica. – 2020. – Т. 5, № 6. – С. 271–275. – DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.36.
6. Количественная оценка репликации РНК вируса клещевого энцефалита в клетках естественного хозяина *Apodemus peninsulae* / М. А. Хаснатинов, Н. А. Болотова, К. С. Миловидов [и др.] // Национальные приоритеты России. – 2016. – № 4 (22). – С. 108–111.

7. Ляпунова, Н. А. Аутэкологические аспекты ко-адаптации ВКЭ и позвоночных хозяев – экспериментальный подход / Н. А. Ляпунова, М. А. Хаснатинов, Г. А. Данчинова // Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания : сб. тез. Всерос. науч. конф. с международным участием. – 2019. – С. 122–125.
8. Ляпунова, Н. А. Новая перевиваемая линия клеток восточной ночницы *Myotis petax* (Hollister 1912) и ее использование в фундаментальных биомедицинских исследованиях / Н. А. Ляпунова, М. А. Хаснатинов, Г. А. Данчинова // Перспективы развития биомедицинских технологий в Байкальском регионе: сб. тез. Междунар. науч. конф. – 2019. – С. 52–53.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от канд. мед. наук Компанец Г.Г. (ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, лаборатория экспериментальной вирусологии, вед.науч.сотр.) – отзыв положительный; от д-ра мед. наук, проф., Сергеева А.Г. (ФГБОУ ВО УГМУ МЗ РФ, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, зав. кафедрой) – отзыв положительный; от PhD Абмэда Д. (Национальный центр инфекционных заболеваний МЗ Монголии, руководитель паразитологической лаборатории) – отзыв положительный; от канд. биол. наук Адельшина Р.В. (ФКУЗ Иркутский противочумный институт Роспотребнадзора, лаборатория природно-очаговых вирусных инфекций, ст.науч.сотр.) – отзыв положительный; от д-ра биол. наук, проф. Савченко А.П. (ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», кафедра охотничьего ресурсоведения и заповедного дела, зав. кафедрой) – отзыв положительный; от д-ра биол. наук, доц. Деминой Т.В. (ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского», кафедра технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции и ветеринарно-санитарной экспертизы, профессор кафедры) – отзыв положительный, но есть замечания по содержанию автореферата: «(1) В разделе «Методология и методы» (стр.6) следует: а) термин «цитологические» заменить на «вирусокопические», а «культивирование клеток...» в этой же строке заменить на «прямая микроскопия»; б) удалить задачу «изучение фенотипических проявлений в культурах клеток млекопитающих» из молекулярно-генетических методов;

в) заменить термин «микробиологические» на «серологические». (2) Опечатки в тексте. Например, на стр. 4 читаем: «ряд культур клеток.....хозяев.....инфекций» вместо «ряд культур клеток.....хозяев.....возбудителей инфекций». (3) Превышен требуемый объем текста реферата»; от д-ра мед. наук Андаева Е.И. (ФКУЗ Иркутский противочумный институт Роспотребнадзора, зам. директора по общим вопросам и организационно-методической работе, зав. лабораторией природно-очаговых вирусных инфекций) – отзыв положительный.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в вирусологии, большим количеством публикаций в этом направлении, высоким профессионализмом и согласием на оппонирование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны клеточные модели инфекции ВКЭ;

предложен оригинальный способ сравнительной оценки согласованности репродукции ВКЭ в различных культурах клеток;

доказана специфическая роль белков NS4A и NS4B в процессах адаптации ВКЭ к клеткам резервуарных и случайных хозяев.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

изучены особенности взаимодействия ВКЭ с клеточными линиями, полученными от двух видов млекопитающих;

доказано, что вирусная репродукция эффективнее протекает в клеточной линии резервуарного хозяина на уровнях репликации РНК ВКЭ, продукции инфекционного ВКЭ и синтеза антигена ВКЭ;

раскрыты видоспецифичные изменения в геноме ВКЭ, происходящие в процессе адаптации к разным по своей роли хозяевам вируса.

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

определена способность клеточной линии резервуарного хозяина *A. peninsulae* эффективно синтезировать антиген ВКЭ в течение длительного времени, что делает её подходящим перспективным субстратом для наработки вирусных антигенов.



которые можно будет использовать для производства вакцин и иммунодиагностикумов;

разработан и защищён патентом способ получения монослойной перевиваемой линии клеток почки *A. peninsulae* для репродукции ВКЭ и производства вирусного антигена для вакцин и диагностических препаратов (Патент RU 2017117772);

представлено предложение о возможности использования созданных клеточных линий восточноазиатской лесной мыши и сибирской ночницы для изоляции, изучения и наработки антигенов других зоонозных вирусов;

полученные в результате работы нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу данных GenBank – KT983422.1, KT983423.1, MT984208.1, MT974474 – и могут быть использованы для изучения распространения, генетического разнообразия и популяционной структуры *A. peninsulae*, *M. sibiricus* и ВКЭ.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ использовано сертифицированное оборудование, воспроизводимость подтверждалась, по меньшей мере, 3-кратными повторами, а качество – референсными контрольными образцами;

теория исследования особенностей репродукции ВКЭ в клетках резервуарных и случайных хозяев построена на известных литературных данных о роли этих млекопитающих для циркуляции ВКЭ в природе и согласуется с экспериментальными результатами, опубликованными по теме диссертации;

идея базируется на анализе данных научной литературы, обобщении передового опыта теоретических и экспериментальных исследований разнообразия природных хозяев ВКЭ, взаимной адаптации хозяина и вируса, а также биологии возбудителя КЭ.

установлено, что использованы данные более 270 научных источников мировой литературы по общей биологии и экологии ВКЭ, освещены современные подходы к изучению биологических особенностей ВКЭ;

использованы современные методы анализа данных, включая биоинформационный анализ с помощью программ BioEdit, облачного сервиса BaseSpace Sequence Hub, инструмента Burrows – Wheeler Alignment-MEM и веб-платформы

