

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 25.09.2020 г. № 9

О присуждении Семеновой Анастасии Викторовне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Конструирование и изучение противоопухолевых свойств рекомбинантных вариантов вируса осповакцины, экспрессирующих трансгены репортерных, иммуностимулирующих и онкотоксических белков» по специальности 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите 07.04.2020 г. (протокол заседания № 4) диссертационным советом Д 208.020.02, созданным 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 Семенова Анастасия Викторовна, 1992 года рождения, в 2014 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» по специальности «Биология».

В октябре 2018 года соискатель освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» г. Новосибирска, на данный момент работает в должности младшего научного

сотрудника отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Диссертация выполнена в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Научный руководитель:

Кочнева Галина Вадимовна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Официальные оппоненты:

Шестопалов Александр Михайлович, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (ФИЦ ФТМ),

Дымова Майя Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории Биотехнологии ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» (ИХБФМ СО РАН)

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Баклаушевым Владимиром Павловичем, доктором медицинских наук, заместителем генерального директора по научной работе и медицинским технологиям и утвержденном Троицким Александром Витальевичем, доктором медицинских наук, профессором, генеральным директором ФГБУ ФНКЦ ФМБА России указали, что диссертация Семеновой Анастасии Викторовны является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлено решение задачи по созданию новых онколитических вариантов вируса осповакцины, обладающих высоким противоопухолевым и антиметастатическим потенциалом. По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов

работа полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. №842, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 23 опубликованные работы, по теме диссертации опубликовано 20 работ, 4 из которых входят в перечень ВАК и международные научные базы, по теме диссертации получены два патента РФ.

1. Ткачёва (Семенова) А.В., Сиволобова Г.Ф., Гражданцева А.А., Шевелев О.Б., Разумов И.А., Завьялов Е.Л., Локтев В.Б., Кочнева Г.В. Таргетная терапия глиобластомы человека с использованием онколитического потенциала парвовируса и аттенуированных штаммов вируса осповакцины. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 2019 – Т. 37– №.2. – С. 83-91.

2. Kochneva G.V., Grazhdantseva A.A., Sivolobova G.F., Tkacheva (Semenova) A.V., Shvalov A.N., Unusova A.Yu., Ryabchikova E.I., Netesov S.V. A model of the artificial metastasis of human epidermoid carcinoma A431 in nude mice for examination of the oncolytic activity of vaccinia virus. Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2016, Vol. 6, No. 4, pp. 469-476.

3. Grazhdantseva A.A., Sivolobova G.F., Tkacheva (Semenova) A.V., Gileva I.P., Kuligina E.V., Rikhter V.A., Kochneva G.V. Highly effective production of biologically active, secreted, human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by recombinant vaccinia virus. Applied Biochemistry and Microbiology, 2016, Vol. 52, No. 7, pp. 685–691.

4. Kochneva G., Sivolobova G., Tkacheva (Semenova) A., Grazhdantseva A., Troitskaya O., Nushtaeva A., Tkachenko A., Kuligina E., Richter V., Koval O. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy. Oncotarget, 2016, Vol.7, No. 45, pp. 74171-74188.

Получены патенты:

1. Кочнева Г.В., Сиволобова Г. Ф., Лупан Т.А., Гражданцева А.А., Ткачева (Семенова) А.В., Кулигина Е.В., Коваль О.А., Рихтер В.А. Рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, обладающий онколитической

активностью и продуцирующий гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор человека и онкотоксический белок лактаптин. // Патент РФ. – 2016. - № 2604187. - Бюл. № 34.

2. Ткачева (Семенова) А.В., Сиволобова Г.Ф., Локтев В.Б., Гражданцева А.А., Кочнева Г.В. Рекомбинантный штамм VV-NS1-dGF вируса осповакцины, продуцирующий белок NS1 парвовируса Н-1 и обладающий онколитической активностью в отношении глиобластомы человека. // Патент РФ 2692628. Опубликовано 25.06.2019г. Бюл. №18.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от д-ра биол. наук Коваленко С.П. (ФГБНУ ФИЦ ФТМ, зав. лабораторией молекулярной генетики) – отзыв положительный, содержит замечание по поводу отсутствия данных о специфичности к опухолевым клеткам рекомбинантного вируса VV-NS1-dGF; от д-ра мед. наук, проф. Сенникова С.В. (ФГБНУ НИИФКИ, зав. лабораторией молекулярной иммунологии) – отзыв положительный, содержит замечание об отсутствии указания методов статистической обработки в подписях к рисункам; от д-ра биол. наук Таранина А.В. (ФГБУН ИМКБ, зав. лабораторией иммуногенетики) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук, проф. Беклемишева А.Б. (ФГБНУ ФИЦ ФТМ, гл. науч. сотр.) – отзыв положительный, содержит замечания оформительского характера; от канд. биол. наук Бабкина И.В. (ИХБФМ СО РАН, ведущий научный сотрудник) – отзыв положительный, содержит вопрос о целесообразности удаления генов антиапоптотических белков в геноме рекомбинантов вируса осповакцины; от канд. биол. наук Романенко М. В. (ФГБОУ ВПО НГУ, научный сотрудник лаборатории бионанотехнологии, микробиологии и вирусологии ФЕН) – отзыв положительный, содержит замечания оформительского характера; от канд. хим. наук Степанова Г. А. (ИХБФМ СО РАН, с.н.с., зав. лабораторией геномного редактирования) – отзыв полностью положительный.

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



Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработаны рекомбинантные варианты вируса осповакцины, которые потенциально могут быть использованы для лечения онкологических заболеваний;
- предложено использование репликативно-компетентного штамма Л-ИВП в качестве основы для создания противоопухолевых препаратов;
- доказано на примере рекомбинантного варианта VACV со встройкой трансгена белка GFP2, что рекомбинантные варианты VACV обладают отчетливым антиметастатическим действием.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказана перспективность использования трансгенов онкотоксических белков NS1 парвовируса крыс Н-1 и лактапина для усиления противоопухолевых свойств вируса осповакцины;
- применительно к проблематике диссертации результативно использован обширный комплекс современных молекулярно-вирусологических методов, трансляционных моделей и мощностей ЦКП «SPF-виварий»;
- изложены факторы, которые позволяют создать противоопухолевые препараты с высокоизбирательными онколитическими свойствами и многофункциональным механизмом действия;
- раскрыты проблемы, связанные со стратегией конструирования онколитических вирусов для уменьшения побочных эффектов онколитической виротерапии;
- изучены онколитические свойства сконструированных рекомбинантных вариантов аттенуированных штаммов VACV;
- проведена модернизация методики по оценке антиметастатической активности аттенуированного рекомбинантного штамма VACV.

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

- разработаны, внедрены и приняты на патентное депонирование в Государственную коллекцию возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора штаммы вирусов VV-NS1-dGF, VV-GMCSF-S1/3, VV-GMCSF-dGF, VV-GMCSF-Lact;

- определены перспективы практического использования созданных рекомбинантных вариантов вируса VACV в качестве терапевтических противоопухолевых вакцин;

- создан рекомбинант VV-NS1-dGF, который может являться основой перспективного препарата для лечения опухолей мозга человека, а также рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact, который может являться основой лекарственного средства для виротерапии злокачественных новообразований молочной железы;

- представлены рекомендации по стратегии конструирования рекомбинантных вирусов осповакцины с использованием оригинальных интеграционных плазмид, несущих ген устойчивости к пуромицину в качестве доминантного селективного маркера.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

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

- теория использования аттенуированных природных и рекомбинантных онколитических вирусов для распознавания и уничтожения раковых и метастатических клеток основана на последних достижениях молекулярной биологии и согласуется с опубликованными экспериментальными данными;

- идея базируется на обобщении передового опыта в области разработки противоопухолевых препаратов на основе вирусов;

- использованы данные более 220 научных работ для составления литературного обзора и сопоставления с ними полученных автором результатов;

- установлена достоверность авторских результатов по публикациям и патентам РФ, а также по итогам независимой государственной экспертизы, проводимой по гос. контракту с Минобрнауки России «Доклинические исследования

лекарственного средства, действующего на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), для лечения рака молочной железы»;

- использованы современные методы генетической инженерии, молекулярной биологии и статистической обработки данных для конструирования рекомбинантных штаммов и определения их противоопухолевой активности.

Личный вклад соискателя состоит в

непосредственном участии соискателя в планировании экспериментов, разработке стратегии исследования. Все основные эксперименты, включая эксперименты по конструированию, анализу структуры и иммунохимических свойств рекомбинантных вариантов VACV; наработка и очистка вирусных штаммов; исследование цитотоксических свойств на опухолевых и нормальных клеточных культурах человека и *in vivo* эксперименты на мышах линии Nu/Nu выполнены автором лично.

На заседании 25.09.2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Семеновой А. В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 5 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 нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель

диссертационного совета



Агафонов Александр Петрович

И.о. ученый секретарь

диссертационного совета

Ильичева Татьяна Николаевна

25.09.2020 г.