

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный
исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины»
(ФИЦ ФТМ)**

Тимакова ул., д. 2, Новосибирск, 630117

Тел./факс (383) 335-97-74

E-mail: director@frcftm.ru

<http://www.frcftm.ru>

ОКПО 49738378; ОГРН 1025403653538;

ИНН/КПП 5408157430/540801001

от 30.11.2021 № 02-04/1044

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

директор ФИЦ ФТМ

академик РАН, д.м.н.,
профессор

 М.И. Воевода

2021 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Старостиной Екатерины Владимировны
**«ДНК-вакцинные конструкции, кодирующие искусственные антигены
вируса гриппа»**, представленной к защите на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Актуальность темы диссертационного исследования

Ежегодные сезонные вспышки гриппа во всем мире поражают 5-15% населения и вызывают значительную смертность среди групп риска, а также наносят большой экономический ущерб. Актуальны в данный момент и зоонозные варианты гриппа. Так, в глобальном масштабе с января 2003 года по 11 ноября 2021 года в 18 странах было зарегистрировано 863 случая инфицирования людей вирусом птичьего гриппа А (H5N1). Из этих 863 случаев 456 были смертельными (смертность 53%). Последний случай был зарегистрирован в Индии в июле 2021 года (WHO, 2021). Несмотря на общепризнанное влияние мер специфической вакцинопрофилактики на снижение уровня заболеваемости и предотвращения тяжёлых случаев заболевания гриппом, эффективность вакцинации сильно зависит от

соответствия циркулирующих эпидемических вирусов вакцинным штаммам. Выпуск сезонных вакцин может сопровождаться ошибками прогнозирования циркулирующих штаммов вируса, что приводит к резкому снижению эффективности вакцинации. Поэтому чрезвычайно актуальными являются исследования, направленные на поиск универсальной противогриппозной вакцины, способной индуцировать перекрёстную защиту от циркулирующих штаммов вируса. Разработке таких вакцин посвящена диссертационная работа Старостиной Екатерины Владимировны, в которой исследованы ДНК-вакцинные конструкции, кодирующих искусственные полиэпитопные антигены вируса гриппа.

Научная новизна и практическая значимость результатов работы

Диссертант в своей работе реализовал один из возможных подходов к созданию универсальной противогриппозной вакцины, основанный на компьютерном дизайне искусственных антигенов, разрабатываемых на платформе ДНК-вакцин.

Автором впервые получены ДНК-конструкции, кодирующие искусственные Т- и В-клеточные иммуногены, и показано, что они индуцируют специфические антитела и Т-клеточный иммунный ответ против двух сезонных штаммов вируса гриппа A/California/4/09(H1N1pdm09) и A/Aichi/2/68(H3N2) у иммунизированных мышей, и обеспечивает частичную перекрёстную защиту животных от смертельного заражения этими штаммами.

Диссертантом получены данные, которые демонстрируют возможности использования компьютерного подхода для рационального проектирования искусственных полиэпитопных антигенов, кандидатов универсальной вакцины против гриппа.

Проведённые автором исследования имеют большое практическое и социальное значение, обусловленное важной ролью, которую вирусы гриппа играют в структуре инфекционной заболеваемости во всех странах мира.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Достоверность полученных в диссертации результатов, обоснованность научных положений, выводов и заключений не вызывает сомнений и основывается на продуманном дизайне исследования и использованной методической базы. Четко сформулированные задачи определили последовательность выполнения исследования и достижение поставленной цели: разработки ДНК-вакцинных конструкций, кодирующих искусственные антигены вируса гриппа, и исследование их специфической активности. Работа проведена с использованием современных генно-инженерных, молекулярно-биологических и иммунологических методов. Используются корректные методы статистической обработки данных. Автором выполнен большой объем экспериментальной работы с использованием адекватных контролей.

Все вышесказанное позволяет считать диссертационное исследование Старостиной Е.В. соответствующим требованиям, предъявляемым к проведению научных исследований. Выводы диссертации хорошо обоснованы и подтверждены экспериментальным материалом. Результаты работы представлены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях: «OpenBio» (Кольцово, Россия, 2019); «Диагностика и профилактика инфекционных болезней на современном этапе» (Новосибирск, Россия, 2019); «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Сочи, Россия, 28-31 октября 2020); 4th International Conference «Perspective technologies of vaccination and immunotherapy» (October 27-29 2020). По теме диссертации опубликовано 3 статьи и 4 тезиса докладов на конференции.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению

Предъявленная диссертация носит целостный и завершенный характер, изложена на 151 странице, состоит из введения, обзора литературы, с

описанием материалов и методов исследования, заключения, выводов, списка использованных сокращений и библиографического указателя, включающего 319 источников. Работа иллюстрирована 31 рисунком и 10 таблицами.

Во введении изложена актуальность темы и степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость работы, а также основные положения, выносимые на защиту, апробация работы и личное участие автора. В обзоре литературы приведены последние данные о вирусе гриппа, описаны подходы к разработке универсальных противогриппозных вакцин, представлены данные об универсальных вакцинах, находящихся на этапе клинических испытаний.

В разделе «материалы и методы» приводится характеристика примененных автором материалов и методов исследования. В работе использовались методы компьютерного моделирования, молекулярного клонирования, секвенирования, выделения и очистки плазмидной ДНК, трансфекции клеток плазмидами, микроскопии, метод иммунохимического окрашивания клеток, работы с культурами эукариотических клеток, иммунизация лабораторных животных сконструированными ДНК-вакцинными конструкциями, проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный анализ и метод ELISPOT. Методы исследования описаны достаточно подробно, что свидетельствует о высоком уровне методической квалификации, необходимом для выполнения поставленных задач. Раздел Результаты состоит из 2-х частей. В первой части описывается проектирование искусственных полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов, конструирование ДНК-вакцин, несущих гены искусственных иммуногенов, оценка экспрессии, иммуногенные и протективные свойства. Во второй части описываются ДНК-вакцинные конструкции, кодирующие искусственные антигены, спроектированные на основе консервативной области ствола гемагглютинаина и белка М2, их конструирование, оценка экспрессии, иммуногенные и протективные свойства. В заключении обобщены результаты проведенных исследований и делается вывод об их фундаментальной и

прикладной значимости. Выводы обоснованы данными экспериментальных исследований, логично сформулированы. Принципиальных замечаний по оформлению работы нет.

Замечания по диссертации

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

Вопросы для обсуждения:

Какой способ презентации полиэпитопных антигенов иммунной системе более эффективен: использование для иммунизации рекомбинантного белка или ДНК-вакцины, кодирующей этот белок?

Возможно ли получить иммуноген, обеспечивающий кросс-протективную защиту от вирусов гриппа типа А и типа В одновременно?

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации отражает ее основное содержание, включает все основные разделы, текст четко структурирован, результаты проведенных исследований хорошо проиллюстрированы.

Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 3 работы, в журналах списка, рекомендованного ВАК Минобрнауки РФ (в том числе в журнале *Vaccines*, относящегося к Q1). Материалы были также представлены на всероссийских и международных конференциях, по итогам которых опубликовано 4 тезиса. Публикации автора полностью отражают основные результаты проведенных исследований.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Диссертационная работа Старостиной Екатерины Владимировны «ДНК-вакцинные конструкции, кодирующие искусственные антигены вируса гриппа», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология,

является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи – по разработке ДНК-вакцинных конструкций, кодирующих искусственные антигены вируса гриппа, и исследованию их специфической активности. По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени 1.5.3 — молекулярная биология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании научного семинара института вирусологии ФИЦ ФТМ (протокол № 1 от 22 ноября 2021 года).

Отзыв составили:

Шестопалов Александр Михайлович, доктор биологических наук, профессор, директор института вирусологии, структурного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

А.М. Шестопалов

Шаршов Кирилл Александрович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией института вирусологии, структурного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

К.А. Шаршов

630117, Новосибирск, улица Тимакова ,2

Тел.: (383)-333-65-37; e.mail: shestopalov2@ngs.ru

Тел.: 89607942136 e.mail: sharshov@yandex.ru

Личную подпись Шестопалова А.М. и Шаршова К.А.

ЗАВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров Минеева О.М.

