

## Отзыв

Официального оппонента на диссертацию

**Усольцевой Полины Сергеевны**

на тему:

**«ОСОБЕННОСТИ РАННИХ ЭТАПОВ РЕПРОДУКЦИИ ЭХОВИРУСОВ С  
РАЗЛИЧНОЙ РЕЦЕПТОРНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ»**

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 03.02.02 – вирусология

Энтеровирусы вида В повсеместно вызывают заболевания с широким набором клинических проявлений, включая лихорадку, конъюнктивит, поражение верхних и нижних дыхательных путей, гастроэнтерит, менингит, энцефаломиелит и энцефалит, отмечаются и летальные случаи энтеровирусных инфекций. Всемирная организация здравоохранения считает энтеровирусные инфекции серьезной угрозой для здоровья населения. Распространены энтеровирусные заболевания и в России, в том числе в Западной Сибири, где в 2019 г. суммарно был зарегистрирован 4321 случай энтеровирусных инфекций; показатель заболеваемости составил 18,65 0/0000 (на 100 тыс. населения), на 48% превысив общероссийский показатель (12,60 0/0000) и на 16% – уровень 2018 г. (16,04 0/0000). Опасность энтеровирусных инфекций и их осложнений определяет **актуальность** диссертационной работы Полины Сергеевны, посвященной исследованию ряда биологических свойств энтеровирусов вида В, включая эховирусы E3, E9, E11 и E30, и коксакивирусы CVA9, CVB4 и CVB5 и построению математической модели одиночного цикла репродукции энтеровирусов.

Инфекционный процесс на уровне клетки начинается со связывания вирусной частицы с рецептором, локализованным на плазматической мембране, и служит начальным звеном цепи молекулярных взаимодействий, приводящих к высвобождению вирусной РНК и её перемещению в цитоплазму. Эти события критически важны для существования и размножения вируса, а их изучение крайне важно для понимания механизмов вирус-клеточных взаимодействий и поиска путей остановить вирусную инфекцию на ранних её этапах. Формулировка цели диссертационной работы Полины Сергеевны «Установить особенности ранних этапов репродукции эховирусов с различной рецепторной специфичностью» четко отражает направленность её работы. Следует положительно отметить конкретные формулировки задач и «Положений, выносимых на защиту».

Диссертационное исследование Усольцевой П.С. представляет результаты, подтверждающие получение **новых теоретически значимых** данных. В частности, диссертантом показано, что клеточный рецептор hFcRn служит общим рецептором для эховирусов и коксакивируса А9, обеспечивающим дезинтеграцию капсидных белков и последующее высвобождение геномной вирусной РНК при репродукции в культуре клеток RD; разработана математическая модель, позволяющая рассчитывать количественные параметры процессов «входа» эховирусов в клетку и сборки новых вирионов в экспериментах с одиночным циклом репродукции. Диссертационная работа Усольцевой П.С., бесспорно, обладает **научной новизной**, все приводимые данные получены впервые. **Практическую значимость** диссертационной работы Полины Сергеевны определяют, в частности, данные о ключевой роли рецептора hFcRn в репродукции эховирусов, делающие возможным получение и использование трансгенных мышей, экспрессирующих hFcRn, для исследований патогенеза эховирусных инфекций и доклинических испытаний противовирусных средств; выявление специфичности протективного действия альбумина и поликлональных антител к hFcRn в культуре клеток RD, позволяющее использовать данные реагенты для субвидовой классификации малоизученных и новых энтеровирусов.

**Достоверность полученных результатов** и выводов диссертационной работы П.С. Усольцевой базируется на большом объеме экспериментального материала, тщательном анализе полученных результатов и комплексе современных взаимодополняющих методов исследования. Результаты диссертационной работы широко обсуждались на научных конференциях и опубликованы в 14 статьях, из которых 6 опубликованы в журналах списка, рекомендованного ВАК Минобразования и науки РФ.

**Характеристика диссертации.** Диссертационная работа Полины Сергеевны представляет собой законченное исследование, оформление которого отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертационная работа имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов, списка цитируемой литературы и двух приложений. Работа изложена на 147 страницах, включает 24 рисунка, 15 таблиц. Список литературы включает 143 источника.



**Во введении** показана актуальность темы диссертационной работы и степень её разработанности. В этом разделе автор формулирует цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, и приводит характеристики диссертационной работы, сведения о публикациях и личном вкладе в работу.

Глава **«Обзор литературы»** дает представление о современном состоянии исследований энтеровирусов, включая особенности таксономии, структуры, молекулярно-биологических характеристик и взаимодействия с клетками. «Обзор» написан на базе современной зарубежной и отечественной научной литературы и дает исчерпывающее представление о структуре генома и морфологических характеристиках энтеровирусов человека; стадиях их репликативного цикла, детально изложен материал, касающийся проникновения энтеровирусов в клетки. В «Обзоре» приводится толкование используемых в диссертационной работе понятий, что облегчает адекватное восприятие результатов работы. В «Обзоре литературы» приведена информация о состоянии изученности всех аспектов биологии энтеровирусов, исследуемых Полиной Сергеевной, а «Заключение по обзору литературы» четко показывает и обосновывает постановку задач и необходимость проведенных диссертантом исследований.

Текст главы **«Материалы и методы»** содержит перечень и описание реактивов, посуды, линий клеток и вирусов, условий культивирования и инфицирования клеток. Основным методом исследования было определение инфекционной активности вирусов на культуре клеток рабдомиосаркомы человека RD, с помощью которого на культуре клеток изучали эффекты альбумина сыворотки человека, поликлональных и моноклональных антител, ингибиторов репродукции эховирусов и изменения инфекционной активности в ходе одиночного цикла репродукции. Все эксперименты описаны достаточно подробно, результаты статистически обработаны. В главе представлены разработка математической модели, описывающей кинетику дезинтеграции капсида с высвобождением РНК и инкапсидации РНК эховирусов в одиночном цикле репродукции, и техническое задание по реализации модели в виде программного обеспечения для ЭВМ. Текст главы дает исчерпывающее представление об использованных методах исследования, описание методов составлено достаточно подробно и в соответствии

с принятыми правилами. Комплекс методов исследования полностью адекватен задачам диссертационной работы.

Глава «**Результаты и обсуждение**» представляет экспериментальные данные диссертационной работы. Полиной Сергеевной проведены хорошо продуманные объемные исследования репродукции эховирусов и влияния на нее разных факторов. В работе показаны специфичный защитный эффект альбумина сыворотки человека, универсальность неонатального рецептора Fc фрагмента IgG человека (hFcRn) для эховирусов и коксакивируса A9. Несомненный интерес представляют эксперименты по изучению кинетических особенностей одиночного цикла репродукции на разных линиях клеток клонированных субтиповых вариантов эховируса 11 с различной рецепторной специфичностью: (1) DAF-зависимый (*daf*<sup>+</sup>) клон 431-1 с двойным рецепторным тропизмом, использующий рецептор DAF и ко-рецептор hFcRn, и (2) не взаимодействующий с DAF (*daf*<sup>-</sup>) клон 431-6, использующий только рецептор hFcRn. Эксперименты выявили различия между клонами вируса, обусловленные наличием того или иного рецептора.

Полина Сергеевна исследовала также влияние химических ингибиторов репродукции эховирусов (роданина, нистатина и нокодазола) на кинетические параметры одиночного цикла репродукции *daf*<sup>+</sup> и *daf*<sup>-</sup> клонов эховируса 11 в культуре клеток RD, причем полученные экспериментальные данные сопоставлялись с расчетными, таким образом не только исследовалось влияние ингибиторов, но и верифицировалась разработанная математическая модель.

Материал раздела «Разработка математической модели, описывающей изменения инфекционной активности эховирусов в экспериментах с одиночным циклом репродукции» изложен понятным для неспециалиста языком и даёт адекватное представление о сути этой части работы. Следует положительно оценить наличие в тексте диссертации подразделов «Значение количественного подхода к описанию формы графиков одиночного цикла репродукции» и «Итоги работ по созданию математической модели», которые суммируют приведенные данные по разработке модели. Учитывая недостаточную представленность математических моделей репродукции вирусов в информационном пространстве, разработанная в рамках диссертационной работы Усольцевой П.С. математическая модель,



несомненно, будет полезна в дальнейших теоретических и экспериментальных разработках.

Текст главы «Результаты и обсуждение» заканчивается разделом «Итоги изучения особенностей одиночного цикла репродукции клонированных субтипových вариантов эховируса 11 с различной рецепторной специфичностью», в котором в сжатой форме приведены все основные данные. Наличие этого раздела, дающего общее представление о полученных результатах, весьма полезно для читателя.

Глава «**Заключение**» обобщает и анализирует полученные данные, показывая соответствие проведенных исследований поставленным задачам. «**Выводы**» конкретны и полностью соответствуют поставленным задачам.

Исследования Полины Сергеевны Усольцевой, результаты которых представлены в диссертационной работе, способствуют более глубокому пониманию молекулярных механизмов репродукции эховирусов и патогенеза эховирусных инфекций, связанных с функцией дезинтегрирующего рецептора hFcRn. Исследования открывают новые возможности для совершенствования терапевтических средств на основе эховирусных векторов и невирусных векторов для доставки генов в клетки человека.

Содержание автореферата диссертации полностью соответствует содержанию диссертационной работы Усольцевой П.С.

По сути и изложению диссертационной работы Усольцевой П.С. замечаний нет, работа обсуждалась и корректировалась в процессе апробации. К диссертанту есть вопрос:

в тексте диссертации используется выражение «пропускная способность пути входа в клетки». Пожалуйста, поясните его смысл в общепринятых вирусологических терминах, а также в терминах, принятых в англоязычной литературе.

В целом диссертационная работа Усольцевой Полины Сергеевны представляет собой законченное научное исследование, автором получены новые данные о биологических свойствах энтеровирусов, несомненно имеющие теоретическое и практическое значение. Полина Сергеевна владеет методами культивирования клеток и вирусов, оценки инфекционной активности вирусов и, главное, анализа полученных результатов с привлечением данных научной

литературы. Считаю, что она – сформировавшийся исследователь, способный успешно решать различные научные задачи в области вирусологии.

**Заключение:** диссертация Усольцевой Полины Сергеевны на тему «Особенности ранних этапов репродукции эховирусов с различной рецепторной специфичностью» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований, решена научная задача: выявлены особенности ранних этапов репродукции эховирусов с различной рецепторной специфичностью, имеющая существенное значение для вирусологии. Диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, согласно пункту 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (с изменениями от 21.04.2016 №335), а её автор, Усольцева Полина Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Рябчикова Елена Ивановна,

профессор, доктор биологических наук,  
главный научный сотрудник, заведующая группой микроскопических исследований  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт  
химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения  
Российской академии наук

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Для телеграмм: Новосибирск 90, ИХБФМ

Телефон: (383) 363-51-50 Факс: (383) 363-51-53

E-mail: [lenryab@niboch.nsc.ru](mailto:lenryab@niboch.nsc.ru)

Сайт группы: <http://www.niboch.nsc.ru/doku.php/ru/structure/labs/microscop>

Согласна на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных.

Подпись Рябчиковой Е.И. заверяю

Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН

К.х.н.



П.Е. Пестряков