

«УТВЕРЖДАЮ»

Руководитель НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ  
СО РАН

доктор медицинских наук,



М.А. Королев

«05» сентября 2022 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации - о научно-практической значимости диссертации Зыбкиной Анастасии Владимировны на тему «Псевдовirusы как инструменты изучения поверхностных гликопротеинов филовирусов и поиска ингибиторов проникновения», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.3 - молекулярная биология.

#### **Актуальность темы.**

Разработка тест-систем, вакцин, специфических противовирусных препаратов крайне актуальная тема, поскольку пандемия COVID-19 продемонстрировала, что миру необходимы платформы для быстрого реагирования на новые вирусные заболевания, которые неизбежно будут появляться. Вирус Эбола вызывает острое вирусное заболевание с высокой смертностью, достигающей 90%. С 2016 по 2021 г. было зафиксировано две вспышки эпидемий, вызванных данным вирусом, смертность от которых оценивается десятками тысяч человек. Хотя вспышки болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ) исторически затрагивали относительно небольшое количество людей в глобальном масштабе, они оказывают помимо большого человеческого страдания, огромный экономический ущерб эндемичным странам. Кроме того, на сегодняшний день продемонстрирован экспорт эбовируса в неэндемичные регионы и наряду с потенциалом их как биологического оружия

актуальность разработок вакцин и специфических противовирусных препаратов не вызывает сомнений. Псевдовirusы представляют собой адекватную замену «живым» высокопатогенным вирусам для таких разработок, позволяют изучать стадии вирусной инфекции, которые опосредованы поверхностными белками, при этом представляют собой безопасную биологическую систему. Важным их достоинством, помимо безопасности и относительно низкой стоимости экспериментов, является возможность быстрой смены структуры поверхностного белка вируса. Данный факт позволяет достаточно быстро получить интересующий вариант/штамм вируса для исследований вируса, поиска вакцин и противовирусных препаратов, что так важно в сегодняшних реалиях. Таким образом, актуальность диссертационного исследования не вызывает сомнений.

Данная работа посвящена разработке псевдовirusов филовirusов на основе лентивirusной и рабдовirusной систем. Разработанные псевдовirusы использовались для поиска соединений ингибиторов проникновения эболавirusов в клетку-мишень на основе полусинтетических производных природных терпеноидов.

Диссертация написана по классической схеме: введение, обзор литературы, глава, в которой представлены материал и методы исследования, главы с изложением результатов собственных исследований, обсуждение, заключение, выводы. Список литературы включает отечественные и зарубежные источники (всего 258 источников). Работа изложена на 128 страницах, включает 17 рисунков, 10 таблиц, написана понятным, научным, легко читаемым языком.

#### **Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов.**

Объем, структура и уровень представления данных настоящей диссертации являются достаточными. Достоверность результатов и положений диссертационной работы определяется четкой формулировкой цели и задач,

адекватностью и комплексностью избранных методов исследования, большим объемом экспериментального материала, применением современных методов статистической обработки и анализом полученных результатов.

В ходе работы были получены 5 вариантов псевдовирусных частиц, оценена их функциональная активность и подтверждено образование частиц при помощи электронной микроскопии. Определена чувствительность к полученным псевдовирусам 6 линий клеток различной видовой принадлежности (человек, мартышка, собака, свинья, летучая мышь, норка). Были подтверждены антигенные свойства полученных частиц с помощью выбранных и самостоятельно наработанных антител, нейтрализующих эболавирусы. Проведен анализ иммуногенности псевдовирусных частиц на куриной модели (по 3 животных в опытных группах и 1 контрольное животное). Был проведен анализ возможности использования частиц вируса везикулярного стоматита, псевдотипированных поверхностным гликопротеином эболавируса Заир, для поиска веществ, способных ингибировать проникновение псевдовирусов в клетки, а также для изучения механизмов этого процесса. Всего в работе проанализирована активность 70 производных терпеноидов.

Количественные результаты подвергнуты соответствующей статистической обработке. Все это позволило получить достоверные результаты и сформулировать обоснованные выводы.

#### **Новизна исследования и полученных результатов.**

Диссертационная работа Зыбкиной Анастасии Владимировны является законченным научным исследованием, в котором впервые исследована способность поверхностного гликопротеина эболавируса Заир обуславливать проникновение в клетки летучей мыши (Tb1.lu), норки (Mv1.lu) и свиньи (СПЭВ). Показано, что иммунизация кур смесью лентивирусных и рабдовирусных частиц в комплексе с неполным адъювантом Фрейнда индуцирует наработку антител класса Y, нейтрализующих псевдовирусы эболавируса Заир. Впервые на основе вируса везикулярного стоматита с дефектом генома по гену поверхностного гликопротеина получены вирусные частицы, псев-

дотипированные поверхностным гликопротеином эболавируса Заир, – варианты гена GP с заменами аминокислот в позициях Y517, D522 и M548 на остаток аланина. С использованием псевдовиральной системы проведен анализ активности 70 производных терпеноидов. Найдены соединения-лидеры, способные ингибировать псевдовirusы с индексом селективности, превышающим 800. Показано, что мишенью связывания исследованных веществ является сайт связывания сертралина. Наиболее высокой ингибирующей активностью обладают производные (-)-борнеола, индекс селективности которых на псевдовirusах превышал 800, а при использовании натурального virusа достиг 31.

**Значимость диссертационной работы для науки и практики** полученных автором диссертации результатов заключается в получении нового инструмента на основе псевдовirusов эболавируса Заир для использования их в качестве тест-систем для определения эффективности потенциальных противовirusных препаратов. Немаловажным результатом является использование псевдовirusных частиц для активации гуморального иммунного ответа против филовirusов. А также возможность тестирования сывороток переболевших и животных, иммунизированных экспериментальными вакцинами, для определения их нейтрализующей активности. Анализ потенциальных низкомолекулярных блокаторов, которые имеют потенцию в качестве основы для создания эффективных противовirusных препаратов также является важным результатом выполненной работы.

**Конкретные рекомендации по использованию полученных результатов и выводов.**

Результаты, полученные диссертационном в исследовании рекомендуется внедрить в исследования по разработке тест-систем, противовirusных соединений, в том числе основанных на производных терпеноидов.

**Заключение.** Диссертационная работа Зыбкиной А.Б. на тему: «Псевдовirusы как инструменты изучения поверхностных гликопротеинов фило-

вирусов и поиска ингибиторов проникновения», выполненная под руководством кандидата биологических наук, Щербакова Д.Н., является законченной научно-квалификационной работой и содержит решение актуальной научно-практической задачи, имеющей существенное значение для разработки тест-систем для скрининга новых препаратов, ингибирующих проникновение вируса в клетки хозяина на основе производных терпеноидов.

По своей актуальности, научной значимости, объему выполненных исследований, новизне полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Рекомендую диссертационному совету принять решение присудить Зыбкиной А.Б. ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Отзыв о научно-практической значимости диссертационного исследования Зыбкиной А.Б. обсужден на межлабораторном семинаре отдела экспериментальной фармакологии НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН (Протокол №3 от 08.08.2022).

Заведующая лабораторией  
Фармакологических активных соединений  
НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН  
кандидат биологических наук

А.О. Соловьева

05 сентября 2022 г.

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики сибирского отделения российской академии наук» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН)

Адрес: г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

тел. +7(383)3336409

e-mail: lymphology@niikel.ru

Личную подпись <i>Соловьева А.О.</i>	заверяю
Начальник отдела кадров: <i>Н.С. Борисова</i>	
<i>05.09</i>	2022 г.

