

ОТЗЫВ

официального оппонента,
кандидата биологических наук Соболева Ивана Андреевича на диссертационную работу
Боргояковой Марии Борисовны «ДНК и ДНК/белковая вакцины для профилактики COVID-19», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Актуальность темы диссертационной работы

В декабре 2019 г. в г. Ухань (Китай) произошла вспышка заболевания, вызванного неизвестным на тот момент коронавирусом SARS-CoV-2. В дальнейшем заболевание сначала получило название «2019 nCoV», а затем - COVID-19 (Coronavirus Disease 2019). К марту 2020 г. вспышка этого заболевания приняла масштаб пандемии. Согласно постановлению Правительства Российской Федерации 31 января 2020 г. новая коронавирусная инфекция была включена в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих. К настоящему времени, по данным ВОЗ, зарегистрировано более 775 млн. случаев заболевания и более 7 млн. летальных исходов. Вероятно, эти данные занижены, так как в мае 2023 г. ВОЗ заявила, что пандемия завершилась и COVID-19 больше не является чрезвычайной угрозой в области здравоохранения и, в следствие этого, надзор за заболеванием снизился.

Пандемия COVID-19 привела к беспрецедентной вспышке исследовательской активности в медицине, фундаментальной и прикладной науке. В частности, на данный момент, в базе данных GISAID представлено более 16 млн. геномов SARS-CoV-2. Для сравнения: в той же базе данных размещены нуклеотидные последовательности всего лишь 520 тыс. геномов вируса гриппа. Активно развивались существующие и разрабатывались новые методы исследования вируса, а также методы профилактики и лечения заболевания. Помимо традиционных вакцин, основанных на использовании инактивированных вирусов или рекомбинантных белков, широкое распространение получили вакцины на основе вирусных векторов, а также вакцины на основе нуклеиновых кислот, что привело к одобрению первой в мире ДНК-вакцины для человека (свидетельствует о перспективах использования вакцин этого типа).

ДНК-вакцины обладают рядом преимуществ: их разработка и создание занимают сравнительно малое время, они безопасны, стабильны в широком температурном диапазоне, способны индуцировать как гуморальный, так и клеточный иммунитет, включая Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты. Недостатком ДНК-вакцин является их низкая иммуногенность в случае инъекции в виде «голой» плазмидной ДНК. Ранее для повышения

иммуногенности ДНК-вакцин был опробован широкий спектр стратегий, включая упаковку в липосомы, использование адъювантных плазмид, кодирующих цитокины, а также доставку с помощью генной пушки, электропорации или инъектора. Эти подходы позволяют повысить иммуногенность, однако их использование сопряжено с некоторыми ограничениями: проблемы безопасности, технологические сложности и увеличение стоимости разрабатываемой вакцины.

В работе Марии Борисовны были использованы различные методы повышения иммуногенности. Оптимизация нуклеотидных последовательностей, кодирующих иммуноген, а также включение в состав конструкции различных сигнальных последовательностей представляют собой известные «классические» методы, а то время как использование поликатионных конъюгатов является оригинальным подходом.

Несмотря на официальные заявления о завершении пандемии, коронавирус SARS-CoV-2 продолжает циркулировать в человеческой популяции, вызывая заболевание COVID-19. Наиболее эффективным методом защиты от COVID-19, как и от множества других инфекционных заболеваний, является массовая вакцинопрофилактика. В этой связи разработка средства профилактики, обладающего преимуществами ДНК-вакцин и лишённого их недостатков, обладает несомненной актуальностью. Кроме того, как мы знаем, многие современные вакцины от COVID-19 были созданы довольно быстро, так как были применены платформы, ранее используемые для решения узких задач и опробованных на ранних стадиях клинических испытаний. Исходя из этого, разработка и оценка эффективности нового подхода для создания вакцины также являются крайне актуальными.

В связи с изложенным, представленное Марией Борисовной диссертационное исследование, цель которого заключалась в разработке экспериментальных ДНК и ДНК/белковых вакцин для профилактики COVID-19 и в изучении их иммуногенных и протективных свойств на мышах линии BALB/c, является актуальным, а также имеет фундаментальное и прикладное значение.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В рамках диссертационной работы Боргояковой М.Б. получена плазида рVAXrbd, которая обеспечивает не только эффективный синтез белка RBD в эукариотических клетках, но и секрецию белка во внеклеточное пространство за счёт введения в состав иммуногена оригинальной сигнальной последовательности, представляющей из себя гибридную сигнальную последовательность люциферазы и фиброина.

Получена плазида рBSI-COV-Ub, которая обеспечивает синтез искусственного полиэпитопного иммуногена, разработанного Бажаном С.И. в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Данный иммуноген представляет из себя последовательность, собранную из эпитопов белков E, M, N, S вируса SARSCoV-2, рестриктируемых мышинными и человеческими МНС I и II класса.

Впервые для вакцины против COVID-19 разработаны самособирающиеся частицы, представляющие из себя комплекс ДНК-вакцины и рекомбинантного белка RBD, конъюгированного с полиглюкин-спермидином.

Новизна исследования и полученных результатов также подтверждена патентами РФ.

Практическая значимость исследования

Полученные автором результаты имеют важное прикладное значение, так как вакцинопрофилактика, на сегодняшний день, является наиболее эффективным способом противодействия как COVID-19, так и многим другим инфекционным заболеваниям. Ценность исследования Марии Борисовны заключается в получении ДНК-вакцин для профилактики COVID-19, которые могут стать компонентами более сложных конструкций и обеспечивать Т-клеточный ответ, очень важный для формирования защитного противовирусного иммунитета. Кроме того, отработанные на вакцине против COVID-19 подходы в разработке ДНК и ДНК/белковых вакцин (в том числе, методы повышения иммуногенности), могут быть использованы при создании средств вакцинопрофилактики против других инфекционных заболеваний. Также было показано, что использование компьютерного подхода для проектирования искусственного полиэпитопного антигена, состоящего из разных белков вируса SARS-CoV-2, может обеспечить создание эффективной ДНК-вакциной конструкции для индукции Т-клеточного ответа.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, включая заключение, а также выводов и списка литературы. Работа изложена на 127 страницах, содержит 6 таблиц и 20 рисунка. Библиографический список включает 275 источников.

В разделе «Введение» Мария Борисовна обосновала актуальность исследования, сформулировала цель и задачи работы, ее научную новизну и практическая значимость, а также представила основные положения выносимые на защиту. Также автором приведены данные о степени достоверности, апробации результатов исследования и личном вкладе.

В главе «Обзор литературы» автором дан обстоятельный анализ литературных данных по теме исследования. Глава соответствует тематике диссертационной работы и

содержит информацию об опасности заболеваний, вызываемых коронавирусами инфекциями, а также о различных подходах в создании вакцин, включая их преимущества и недостатки. Кроме того, приведены используемые и потенциальные методы решения проблем, возникающих при создании средств вакцинопрофилактики.

Глава «Материалы и методы» содержит обширный перечень использованных автором экспериментальных и аналитических методов исследования. Многообразие использованных Марией Борисовной методов характеризует ее как крайне квалифицированного научного сотрудника, а выполненную ею научную работу — как объемное и многогранное исследование, выполненное на высоком методическом уровне с использованием современных методов и подходов.

Глава «Результаты и обсуждение» включает результаты собственных исследований автора. В этой главе Марией Борисовной представлены и обсуждены этапы работы по разработке и апробации стратегий повышения иммуногенности ДНК-вакцин против COVID-19. Автором показано, что применение различных стратегий, улучшающих иммуногенность ДНК-вакцин, будь то оптимизация кодонного состава, присоединение к иммуногену различных сигнальных последовательностей или использование различных средств доставки, приводят к созданию вакцинных препаратов, способных индуцировать иммунный ответ, позволяющий значительно снизить вирусную нагрузку в лёгких при заражении лабораторных животных живым вирусом.

Выводы диссертации четко сформулированы, обоснованы, соответствуют поставленным задачам и достаточно полно отражают результаты, полученные автором.

Автореферат диссертации достаточно полно и адекватно отражает ее основные положения и содержание. В нем дана общая характеристика работы, описаны методы исследования и основные результаты, из которых следуют выводы.

В целом, диссертация соответствует специальности, по которой она представлена к защите, написана ясно и логично, а ее оформление отвечает существующим требованиям.

Достоверность результатов, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций не вызывают сомнений. Марией Борисовной в ее работе использовался комплексный подход с применением широкого спектра экспериментальных и аналитических подходов, включая статистическую обработку полученных результатов и их воспроизводимость в повторах.

Научные положения, выводы и заключение, сформулированные в диссертации, обоснованы объемом и логичностью проведённых исследований, использованием современных биохимических, молекулярно-биологических, иммунологических и биоинформационных методов исследования на сертифицированном оборудовании.

Основные положения, выносимые на защиту, и выводы логично вытекают из поставленных автором задач и полученных результатов.

Публикации и апробация результатов представлены в диссертации.

Результаты работы отражены в 6 публикациях в отечественных и зарубежных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для защиты диссертаций. Кроме того, по тематике исследования получено 4 патента РФ на изобретения.

Результаты работы неоднократно представлены автором в форме устных докладов на различных международных конференциях. Доклады были высоко оценены научным сообществом.

Вопросы и замечания к диссертационной работе

Работа однозначно оценивается положительно. Присутствие в тексте диссертации незначительного количества орфографических ошибок, естественно, никоим образом не ставит под сомнение научную ценность и практическую значимость работы.

Однако, хотелось бы узнать мнение автора по ряду вопросов:

1. Было бы интересно узнать мнение автора об эффективности разработанных экспериментальных ДНК и ДНК/белковых вакцин для профилактики COVID-19 относительно существующих отечественных аналогов: Спутник V (Гам-КОВИД-Вак), ЭпиВакКорона, КовиВак.

2. На чем основан выбор штаммов SARS-CoV-2 для оценки вируснейтрализации (nCoV/Victoria/1/2020) протективного ответа (hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021)?

3. Несколько озадачило отсутствие в списке использованной литературы русскоязычных публикаций. При том, что встречаются публикации российских авторов на английском языке. Неужели в российских журналах отсутствуют публикации по тематике исследования?

Заключение

Диссертационная работа Боргояковой Марии Борисовны «ДНК и ДНК/белковая вакцины для профилактики COVID-19», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой автором приведены результаты разработки экспериментальных ДНК и ДНК/белковых вакцин для профилактики COVID-19 и в изучения их иммуногенных и протективных свойств на мышах линии BALB/c.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции

постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сама автор, Боргоякова Мария Борисовна, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Официальный оппонент: старший научный сотрудник
ФГБУ «Федеральный исследовательский центр
фундаментальной и трансляционной медицины»,
Научно-исследовательский институт вирусологии,
e-mail: sobolev.riov@yandex.ru
Тел. +7 961-228-42-78
к.б.н. Иван Андреевич Соболев



Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный
исследовательский центра фундаментальной и трансляционной медицины»,
г. Новосибирск, 630117, ул. Тимакова, д. 2
телефон/факс приемной: +7(383)333-64-56.

Личную подпись Соболева ИА заверяю
Вер. Снегирева отдела кадров ФИЦ ФТМ
"6" мая 2024 г. подпись И.В. Волосихина

