

УТВЕРЖДАЮ:



Директор ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Д.А. Лиюзов
«21» сентября 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**на диссертационную работу Шаньшина Даниила Василевича
«Получение и характеристика широкореактивного химерного антитела
10Н10 специфичного к Е белку ортофлавириусов», представленной на
соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.3 — Молекулярная биология**

Актуальность темы

Произошедшее за последние 50 лет расширение ареала и распространённости кровососущих насекомых-переносчиков флавивирусов привело к резкому росту числа инфекций, приводящих к геморрагической лихорадке или энцефалиту. Фиксируемые ежегодно миллионы случаев заражения флавивирусами представляют серьёзную угрозу для общественного здравоохранения, стимулируя исследования патофизиологии инфекции, механизмов ускользания флавивирусов от иммунного ответа, разработки вакцин и противовирусной терапии. Разработку препаратов затрудняет широкое разнообразие данных вирусов. Поиск кросс-специфичных антител, расшифровка их мишеней и подбор способов гуманизации — одни из потенциальных подходов для разработки универсального способа таргетной доставки препаратов против флавивирусов. Всё вышесказанное обосновывает актуальность представленной диссертационной работы.

Связь работы с развитием отраслей науки и народного хозяйства

Представленная работа является логичным продолжением и развитием исследований широкореактивного антитела 10H10 против флавивирусов, полученного в 1990-е годы командой ученых ГНЦ ВБ «Вектор». В соответствии с современными требованиями к препаратам моноклональных антител, задачи работы включали получение гуманизированного варианта антитела, а также расшифровку эпитопа-мишени антитела. Поставленные задачи были выполнены на высоком методическом уровне с использованием современных технологий молекулярной биологии и компьютерного моделирования.

Новизна исследования и полученных результатов

Результаты представленного диссертационного исследования, посвященные подробной характеристике отечественного моноклонального антитела 10H10, широкоспецифичного к различным флавивирусам, безусловно являются новыми данными. Однако для большинства широкореактивных моноклональных антител, описанных в научной литературе, регионом связывания является фьюжн-петля поверхностного гликопротеина флавивирусов, так же, как и для антитела 10H10 (Rey et al., 2018; doi:10.15252/embr.201745302). Поэтому в отсутствии сравнительного анализа с антителами, описанными в литературе, научную новизну представленных в диссертации результатов определить затруднительно. Часть диссертационного исследования, посвященная конструированию интеграционного вектора pVEAL3-10H10ch, представляет собой более интересную задачу. Автором успешно получена новая экспрессионная линия клеток на основе CHO-K1, продуцирующая химерное гуманизированное антитело, кодирующее паратоп мышиногo антитела 10H10. Новизна разработки подтверждена патентом на изобретение РФ №2800471 от 21.07.2023 г.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Данные, полученные в рамках представленного диссертационного исследования, расширяют спектр охарактеризованных моноклональных антител,

специфичных к различным флавивирусам, открывают новые аспекты взаимодействия подобных антител с петлей слияния поверхностного гликопротеина флавивирусов, а также ставят вопрос потенциального взаимодействия с другими схожими белками. Представленное диссертационное исследование можно рассматривать в качестве раннего этапа разработки гуманизированного моноклонального антитела для создания на его основе препарата широкого спектра действия против флавивирусной инфекции, что определяет его практическую значимость в далекой перспективе.

Рекомендации по использованию результатов работы и выводов диссертации

Полученные результаты являются большим шагом в разработке препарата против флавивирусных инфекций на основе широкореактивного антитела 10H10 и могут стать основой для его последующего внедрения в практику здравоохранения. Несомненным преимуществом является защита объекта разработки патентом на изобретение РФ №2800471 от 21.07.2023 г.

Количество печатных работ в изданиях, рекомендованных ВАК

По результатам диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ в рецензируемых изданиях, из которых 4 — в изданиях, входящих в Перечень журналов и изданий, утвержденных Высшей аттестационной комиссией (из них 3 — издания первой категории), и 3 — в изданиях, индексируемых международными библиографическими базами Scopus и Web of Science. Все 7 печатных работ опубликованы в научных журналах, входящих в «Белый список», из них две работы в изданиях уровня 1 и пять работ в изданиях уровня 3 (по состоянию на 14.04.2025 г.). Таким образом, количество печатных работ, в которых опубликованы результаты диссертационного исследования, является достаточным.

Личный вклад автора

Анализ опубликованных по результатам выполнения диссертации статей и патента свидетельствует о том, что Д.В. Шаньшин внес существенный вклад в концептуализацию и методологию диссертационного исследования наряду с

научным руководителем, а также самостоятельно выполнил основную часть экспериментальной работы, анализа и визуализации данных. Кроме того, Д.В. Шаньшин принимал непосредственное участие в написании статей и подготовке докладов на российских и международных конференциях. Все вышеперечисленное позволяет заключить, что в представленном диссертационном исследовании личный вклад автора является основным и достаточным.

Соблюдение принципов соответствия в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Д.В. Шаньшина посвящена конструированию химерного антитела, специфичного к ортофлавивирусам, генно-инженерными методами, характеристику полученного антитела с использованием компьютерного моделирования, молекулярно-биологических и биохимических подходов, что позволяет сделать заключение о соответствии темы диссертации научной специальности 1.5.3 — Молекулярная биология.

Работа построена по классическому принципу: содержит введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты, заключение и выводы. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации. Цель и задачи работы логично сформулированы. Обзор литературы дает хорошее представление об ортофлавивирусах, их взаимодействии с иммунной системой, важности феномена антитело-зависимого усиления инфекции. Методические подходы описаны достаточно подробно, результаты наглядно проиллюстрированы. Представленные результаты соответствуют поставленной цели диссертационной работы и отражены в публикациях автора диссертации.

Положения, выносимые на защиту, адекватно сформулированы и в достаточной степени обоснованы представленными экспериментальными данными.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Основным достоинством представленного диссертационного исследования является высокий методический уровень работы, соответствующий современным

исследованиям в данной области. Использование нестандартного подхода для создания экспрессионной конструкции является интересным решением.

К недостаткам работы следует отнести уже упомянутое выше отсутствие сравнительных экспериментов или теоретического обсуждения сходств/различий, преимуществ/недостатков исследуемого антитела 10Н10 по сравнению с аналогичными антителами, описанными в научной литературе.

В диссертации автор неоднократно упоминает о том, что «химеризация антитела является нетривиальной задачей и требует всестороннего изучения донорного антитела, включая его иммунохимические свойства и структуры» (стр. 82, стр. 35). При этом в обсуждении не раскрыто, каким образом подробное картирование эпитопа мышинового антитела и молекулярный докинг способствовали созданию химерного гуманизированного варианта. Аналогичный вопрос вызывает скудное обсуждение причин снижения кросс-специфичности у химерного варианта при наличии таких мощных инструментов анализа.

Некорректным смотрится цитирование работы, в которой проведено получение антитела 10Н10. Антитело 10Н10 является основным объектом диссертационного исследования, при этом первая ссылка на работу об этом антителе приведена лишь в главе Результаты под номером 272, аналогично в Автореферате.

Перечисленные недостатки не влияют на общую положительную оценку работы, однако формируют вопросы для дискуссии и требуют комментария автора диссертации.

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

Диссертационная работа Д.В. Шаньшина «Получение и характеристика широкореактивного химерного антитела 10Н10 специфичного к Е белку ортофлавириусов» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством кандидата биологических наук Д.Н. Щербакова, содержит решение актуальной научной задачи — получение гуманизированного антитела с широкой специфичностью к различным ортофлавириусам, имеющей

существенное значение в области молекулярной биологии и вирусологии, и таким образом удовлетворяет критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в соответствии с п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Шаньшин Даниил Василевич заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 — Молекулярная биология.

Отзыв рассмотрен на научном семинаре отдела вакцинологии и иммунотерапии и утвержден на Ученом совете ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, протокол № 7 от 01.09.2025 г.

Отзыв составил:

Ведущий научный сотрудник лаборатории векторных вакцин
отдела вакцинологии и иммунотерапии

ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»

Минздрава России,

кандидат биологических наук

 Сергеева Мария Валерьевна

Подпись Сергеевой М.В. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»

Минздрава России,

кандидат медицинских наук

«01» сентября 2025 г.



 Лобова Тамара Геннадиевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 15/17, тел.: +7(812) 499-15-00, <https://www.influenza.spb.ru>