

ОТЗЫВ на автореферат диссертации Кисакова Дениса Николаевича «Доставка экспериментальных ДНК- и мРНК-вакцин против COVID-19 с помощью электропорации и струйной инъекции», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям
1.5.3. Молекулярная биология, 1.5.10. Вирусология

Диссертационная работа Кисакова Дениса Николаевича посвящена исследованию потенциала физических методов доставки экспериментальных ДНК- и мРНК-вакцин с помощью электропорации и струйной инъекции в организм лабораторных животных. **Актуальность** проведённого исследования не вызывает сомнений. Пандемия COVID-19 потребовала от исследователей разработки эффективных методов профилактики данного заболевания. Перспективным направлением исследований оказалась разработка ДНК- и мРНК-вакцин. Вакцины на основе этих биополимеров были лицензированы для использования против COVID-19. Такие вакцины эффективно стимулируют как гуморальный, так и Т-клеточный иммунитет. Их производство быстрее и безопаснее по сравнению с производством традиционных вакцин, кроме того, данные препараты достаточно легко адаптируются под новые патогены. Таким образом, на основе нуклеиновых кислот возможно создание универсальных вакцин. Однако иммуногенность вакцин на основе нуклеиновых кислот часто оказывается невысока. Для её повышения применяются как химические (липидные наночастицы, катионные полимеры), так и физические средства доставки (электропорация, генная пушка и струйная инъекция). Среди физических методов наиболее перспективными представляются электропорация и струйная инъекция как наиболее простые технологически, при этом обеспечивающие высокий иммунный ответ и пониженную реактогенность вакцин.

Научная новизна и практическая ценность работы. В ходе выполнения диссертационной работы автором был разработан и оптимизирован эффективный протокол введения ДНК-вакцины мышам с помощью электропорации, позволивший повысить иммуногенность ДНК-вакцины pVAXrbd. Также диссертант разработал протокол безыгольной струйной инъекции для доставки pVAXrbd, при использовании которого наблюдалось значительное снижение вирусной нагрузки в легких мышей после заражения Гамма-вариантом SARS-CoV-2. Впервые была продемонстрирована возможность введения мРНК-вакцины с помощью струйного безыгольного инжектора. Показано, что иммунизация мышей мРНК, кодирующей RBD-домен S-белка SARS-CoV-2, с помощью струйной инъекции обеспечивает формирование высокого уровня нейтрализующих антител и Т-клеточного ответа.

Разработанные протоколы электропорации и струйной инъекции – эффективные и технологичные физические методы доставки ДНК- и мРНК-вакцин, перспективные для дальнейших исследований и практического применения.

Проведенное исследование достаточно подробно отражено в автореферате. Полученные результаты опубликованы в 5 статьях в ведущих рецензируемых научных изданиях из перечня, рекомендованного ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, индексируемых в базах данных РИНЦ, Web of Science, Scopus. Результаты работы также отражены в 12 тезисах докладов на всероссийских и международных конференциях.

По автореферату имеются следующие вопросы и замечания:

1. К сожалению, качество рисунка 1 не позволяет рассмотреть его детально, поскольку надписи сделаны слишком мелкими.
2. На стр. 17 автореферата автор пишет, что «В связи с низкой эффективностью электропорации для доставки мРНК-вакцин (рисунок 9) был применен метод струйной инъекции, ранее показавший хорошие результаты при введении ДНК-вакцин». Однако на рис. 9 представлены результаты, относящиеся к методу струйной инъекции. Возможно, имелся в виду рис. 4?

3. На стр. 19 автореферата автор пишет, что «Наименьшая вирусная нагрузка отмечена в группе со струйной инъекцией мРНК-RBD — 16 823 копий/мл. Различия между группами мРНК-RBD-ЛНЧ (40 935 копий/мл) и мРНК-RBD С/И не были значимыми ($p = 0,3729$). У мышей, получавших В/М введение, вирусная нагрузка снизилась в 10 раз по сравнению с опытными группами ($p = 0,0045$ для С/И; $p = 0,0002$ для ЛНЧ). У контрольных животных этот показатель составил 118 430 копий/мл ($p < 0,0001$)». Однако из рис. 12 видно, что вирусная нагрузка при внутримышечном введении выше, чем при струйной инъекции, и находится примерно на том же уровне, что и у контрольных (неиммунизированных) мышей.

Тем не менее, приведенные замечания не носят принципиального характера и не снижают высокую оценку представленной работы, которая в целом производит благоприятное впечатление. По своей новизне и актуальности полученных результатов, уровню обсуждения и практической значимости представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям пп. 9-11, 13, 14 положения о присуждении учёных степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (ред. от 25.01.2024) "О порядке присуждения ученых степеней", предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Кисаков Д.Н. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология, 1.5.10. Вирусология.

Рецензенты:

Кандидат химических наук, доцент,
старший научный сотрудник
лаборатории исследований
органических соединений
Химического института им. А.М.
Бутлерова Федерального
государственного автономного
образовательного учреждения
высшего образования «Казанский
(Приволжский) федеральный
университет»
420008 г. Казань, ул. Кремлевская, д.
29/1
E-mail: olga.mostovaya@mail.ru
Тел.: 8 (843) 233 72 41

Ольга Александровна
Мостовая

Доктор химических наук, профессор,
заведующий кафедрой органической
и медицинской химии Химического
института им. А.М. Бутлерова
Федерального государственного
автономного образовательного
учреждения высшего образования
«Казанский (Приволжский)
федеральный университет»
420008 г. Казань, ул. Кремлевская, д.
29/1
E-mail: Ivan.Stoikov@mail.ru
Тел.: 8 (843) 233 72 41

Иван Иванович
Стойков



«02» сентября 2025 г.