

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.001.01 созданного на  
базе ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В  
СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 23.12.2021 г. № 26

О присуждении Волковой Наталье Вячеславовне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Получение экспериментальных ДНК-вакцин против лихорадки Марбург» по специальностям 1.5.3 – молекулярная биология и 1.5.10 – вирусология принята к защите 18.10.2021 г. (протокол заседания № 20) диссертационным советом 64.1.001.01, созданным на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, приказ от 12.04.2018 № 403/нк, изменения от 08.02.2021 г. № 111/нк.

Соискатель Волкова Наталья Вячеславовна, 1993 года рождения, в 2016 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный университет», по специальности «Фундаментальная и прикладная химия».

В 2020 году соискатель освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», работает младшим научным сотрудником в отделе биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Диссертация выполнена в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Научные руководители - Щербаков Дмитрий Николаевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора и Казачинская Елена Ивановна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Официальные оппоненты:

Сергеев Артемий Александрович, доктор медицинских наук, глава Представительства Компании «Авва Фармасьютикалс ЛТД»

Сергеева Мария Валерьевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории векторных вакцин ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Санкт-Петербург, в своем положительном заключении, подписанном Зарубаевым Владимиром Викторовичем, доктором биологических наук, профессором, ведущим научным сотрудником лаборатории экспериментальной вирусологии и утвержденном Тотоляном Арегом Артемовичем, доктором медицинских наук, академиком РАН, профессором, директором ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, указала, что диссертация Волковой Натальи Вячеславовны является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, направленной на получение ДНК-вакцины против лихорадки Марбург.

По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 -11, 13 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой по специальностям 1.5.3 – молекулярная биология и 1.5.10 – вирусология.

Соискатель имеет 27 научных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 3 работы в рецензируемых научных изданиях.

1. Волкова Н.В., Казачинская Е.И., Щербаков Д.Н. Экспериментальные вакцины для профилактики геморрагической лихорадки Марбург и биомодели для изучения ее патогенеза Проблемы особо опасных инфекций. Вып. 3. 2018. С. 8-15.

2. Volkova N.V., Ryankov O. V., Ivanova A. V., Isaeva A. A., Zybkina A. V., Kazachinskaya E. I., Shcherbakov D.N. Prototype of a DNA Vaccine against Marburg Virus. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. Vol. 10. 2020. P. 487-491.

3. Волкова Н.В., Иванова А.В., Исаева А.А., Полежаева О.А., Зайковская А.В., Щербаков Д.Н., Казачинская Е.И. Получение рекомбинантных антигенов для проведения серологической диагностики лихорадки Марбург. Проблемы особо опасных инфекций. Вып. 4. 2020. С. 47-52.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от д-ра биол. наук Шаповала А.И. (ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», исполнительный директор Российско-Американского противоракового центра) – отзыв положительный; от канд. биол. наук Зайковской А.В. (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, старший научный сотрудник) – отзыв полностью положительный; от канд. мед. наук Сергеева А.А. (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, ведущий научный сотрудник) – отзыв полностью положительный; от канд. хим. наук Бондарь А.А. (ФГБУН ИХБФМ СО РАН, научный сотрудник Объединенного центра геномных, протеомных и метаболомных исследований) – отзыв полностью положительный, от канд. хим. наук Степанова Г.А. (ФГБУН ИХБФМ СО РАН, старший научный сотрудник, зав. лабораторией геномного редактирования) – отзыв полностью положительный.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в области вирусологии и молекулярной биологии, большим количеством публикаций в этой области, высоким профессионализмом и согласием на оппонирование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработано три ДНК-вакцинные конструкции pVAKS-GPDM, pVAKS-2PM и pVAKS-3PM против лихорадки Марбург, включающие гены, кодирующие

структурные белки вируса Марбург. Данные конструкции могут быть применены в качестве основы профилактической ДНК-вакцины против лихорадки Марбург; предложена и проверена при помощи методов Elispot и ICS способность ДНК-вакцинных конструкций pVAKS-GPDM и pVAKS-3PM индуцировать антиген-специфический CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>T-клеточный иммунный ответ у мышей Balb/; доказано формирование вирусоподобных частиц морфологически и иммунохимически схожих с нативным Марбург вирусом, при трансфекции клеток HEK293T одновременно двумя ДНК-вакцинными конструкциями pVAKS-GPDM и pVAKS-2PM, и только одной плазмидой pVAKS-3PM; введены дополнительные рекомендации по конструированию ДНК-вакцин.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказано формирование вирусоподобных частиц, морфологически и иммунохимически схожих с нативным Марбург вирусом, при трансфекции клеток HEK293T ДНК-вакцинными конструкциями, содержащими гены, кодирующие поверхностный гликопротеин GP и матриксный белок VP40 MARV; применительно к проблематике диссертации результативно использован обширный комплекс современных методов исследования; изложены доказательства того, что трехкратная иммунизация морских свинок экспериментальной ДНК-вакциной pVAKS-GPDM обеспечивает формирование антител, нейтрализующих псевдовирuses, содержащие поверхностный гликопротеин Марбург вируса в экспериментах *in vitro*; раскрыты данные о способности разработанных ДНК-вакцин индуцировать выработку гуморального иммунного ответа; изучена способность полученных ДНК-вакцинных конструкций стимулировать Марбург вирус-специфические ответы CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у мышей линии Balb/c.

проведена модернизация и расширение метода конструирования и анализа экспериментальных ДНК-вакцин против заболеваний, вызванных филловирuсами.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработана экспериментальная ДНК-вакцина pVAKS-GPDM, которая может стать основой для создания вакцины против заболевания лихорадки Марбург;

определены перспективы практического использования результатов работы: использование ДНК-конструкций в качестве основы для вакцины против лихорадки Марбург;

создана ДНК-вакцинная конструкция pVAKS-GPDM, которая может быть использована в качестве основы для создания вакцины против лихорадки Марбург;

представлены результаты исследований ДНК-вакцинной конструкции pVAKS-GPDM на морских свинках.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании;

теория работы основана на анализе научных публикаций об использовании структурных белков в качестве мишеней для разработки эффективной вакцины против лихорадки Марбург;

идея работы базируется на актуальности разработки вакцины против лихорадки Марбург из-за сохранения угрозы вспышек филовиральных инфекций;

использованы данные 174 научных работ для составления литературного обзора и сопоставления с ними полученных автором результатов;

установлено, что ДНК-конструкция, содержащая ген, кодирующий поверхностный гликопротеин Марбург вируса без муциноподобного домена, при внутримышечной иммунизации морских свинок индуцирует выработку антител, обладающих нейтрализующей активностью против Марбург вируса;

использованы современные вирусологические, генно-инженерные и статистические методы.

Личный вклад соискателя состоит в:

дизайне и создании ДНК-вакцинных конструкций pVAKS-GPDM, pVAKS-2PM и pVAKS-3PM их наработке для иммунизации, а также иммунизации лабораторных животных (морских свинок и мышей линии Balb/c) и заборе крови для анализа, все манипуляции выполнены автором лично. Автором лично были проведены обработка и анализ результатов, подготовка публикаций и выступления на конференциях.

Иммунохимический анализ сывороток животных выполнен совместно с зав. сектором гибридных технологий отдела биоинженерии Казачинской Е.И. Нарботку препаративного количества рекомбинантных белков для постановки ИФА автор выполнял совместно со старшим научным сотрудником отдела Ивановой А.В. Определение нейтрализующей активности сывороток животных на псевдовиральной системе выполнен совместно со стажером-исследователем Зыбкиной А.В.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Волкова Наталья Вячеславовна аргументировано ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 23.12.2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Волковой Натальи Вячеславовне ученую степень кандидата биологических наук **за решение научной задачи**, связанной с конструированием ДНК-вакцины против лихорадки Марбург, которая может стать основой для создания вакцины против данного заболевания.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 4 доктора наук по специальности 1.5.3-молекулярная биология, 7 докторов наук по специальности 1.5.10 – вирусология, биологические науки, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 19, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук  
23.12.2021 г.



Агафонов Александр Петрович

Непомнящих Татьяна Сергеевна