

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Кононовой Алены Александровны

«ПСЕВДОВИРУСНАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ВИРУСА ВЕЗИКУЛЯРНОГО  
СТОМАТИТА ДЛЯ ПОИСКА ПРОТИВОВИРУСНЫХ СРЕДСТВ, ДЕЙСТВУЮЩИХ НА  
ВИРУСНЫЕ ПОВЕРХНОСТНЫЕ БЕЛКИ»,

представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

**Основные научные результаты и их актуальность.** Диссертационная работа Кононовой А.А. посвящена разработке псевдовирусной системы для поиска противовирусных средств, действующих на поверхностные белки высокопатогенного вируса гриппа H5N1, а также поиску противовирусных средств, действующих на начальные стадии инфекции вируса Марбург с использованием аналогичной псевдовирусной системы. Работа имеет первостепенное прикладное значение, поскольку угроза общественному здравоохранению со стороны как новых, так и возвращающихся вирусных инфекций, требует усовершенствования уже имеющихся и поиска совершенно новых противовирусных препаратов. Не вызывает сомнений и фундаментальный аспект работы, поскольку автор показывает возможность использования разработанной псевдовирусной системы для изучения функционирования поверхностных белков вируса гриппа – гемагглютинина и нейраминидазы. В своей работе Алена Александровна использует современные методы, включая работу с клеточными культурами, плазмидными ДНК, проточную цитометрию, микроскопию (световую и флюоресцентную) и другие. Две работы по теме диссертации опубликованы в международных научных журналах с импакт-фактором выше 2 (в одном из них соискатель – первый автор), одна – в отечественном журнале, зарегистрирован патент РФ.

**Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, достоверность полученных результатов.** Выносимые на защиту научные положения основаны на обширном фактическом материале, полученным как самим автором, так и в соавторстве с другими участниками научного коллектива. В ходе работы получены псевдовирусные препараты на основе капсида рекомбинантного ВВС, экспрессирующие поверхностные белки вируса гриппа H5N1 - оригинальная безопасная модель, имитирующая начальные стадии инфекции вируса гриппа (функционирование вирусного гемагглютинина) и стадию отпочковывания вируса гриппа от клетки (функционирование вирусной нейраминидазы). Показано, что инфекционность

полученных псевдовирюсов обусловлена именно поверхностными белками, а трансдуцирующая способность псевдовирюсов, псевдотипированных поверхностными белками вируса гриппа H5N1, зависит от активности нейраминидазы, действующей на стадии продукции псевдовирюса. Получен псевдовирюс с поверхностным белком вируса Марбург, показана возможность моделирования псевдовирюсной многоцикловоу инфекции в клеточном монослое. Выполнен скрининг библиотеки низкомолекулярных соединений, обнаружены соединения, блокирующие начальные стадии инфекции псевдовирюса, псевдотипированного поверхностным белком вируса Марбург. Корректность методов не вызывает сомнения и подтверждается хорошим рейтингом опубликованных по теме диссертации работ. Достоверность результатов подтверждается их воспроизведением с помощью разных подходов.

**Общая оценка работы.** Диссертационная работа изложена на 130 страницах, включает 24 рисунка, 2 таблицы. Диссертация оформлена по стандартной схеме, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы и приложения, которое содержит основные сведения о протестированной библиотеке химических соединений. Список цитируемой литературы содержит 171 источник, 170 из которых на английском языке. При прочтении главы «Введение» создается хорошее понимание актуальности темы исследования, автор выделяет в отдельные разделы цели и задачи, научную новизну и практическую значимость, положения, апробацию результатов, а также вклад автора в работу. Обзор литературы основанный, большей частью, на недавних исследованиях, опубликованных в ведущих международных журналах, состоит из двух частей: в первой части подробно описаны принципы конструирования псевдовирюсных частиц, во второй части - механизмы функционирования вирусных поверхностных белков, особое внимание уделено механизмам проникновения вирусных гриппа и филовирусов в клетку-мишень. Глава заканчивается разделом «Заключение», где логично обосновывается актуальность исследования и дальнейшее направление работы. Глава «Экспериментальная часть» включает описание материалов, и методов, использованных в работе и раздел «результаты». Раздел «Обсуждение результатов» несколько лаконичен, однако, содержит интересную дискуссию о месте полученных данных в современном состоянии исследований. Раздел «Выводы» состоит из 5 пунктов, они довольно хорошо сформулированы, соответствуют защищаемым положениям и согласуются с результатами. Основные результаты диссертационной работы кратко суммированы в автореферате, там присутствуют все выводы и список публикаций по теме исследования. Диссертация и автореферат написаны грамотно и логично.

**Научная новизна, теоретическая и практическая значимость.** Все представленные данные получены впервые, опубликованы в научных журналах и представлены на конференциях. Полученные автором результаты открывают новые перспективы использования биологически безопасных рекомбинантных вирусов и, безусловно, являются значительным вкладом в поиск новых подходов в разработке терапии вирусных инфекций.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.** Разработанная оригинальная система на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита с поверхностными белками вируса гриппа может быть использована как для поиска новых противовирусных соединений, действующих на поверхностные белки вируса гриппа, так и для установления механизма действия имеющихся противовирусных средств.

**Общие замечания и вопросы.** Следует отметить, что критических замечаний к работе нет, однако имеются ряд замечаний по оформлению и содержанию диссертации.

- 1) На графиках, представленных на рисунках 13, 17, 18, отсутствует полная информация о статистическом анализе полученных результатов. Данная информация отсутствует и в подписях к картинкам.
- 2) На рисунках 14, 19, 21, 23 не хватает масштаба изображения.
- 3) В разделе 2.2.11 указано, что в качестве референсных соединений выбраны верапамил и амиодарон, однако в таблице 2 не указаны значения полуингибирующих и цитотоксических концентраций для амиодарона

**В рамках дискуссии к соискателю имеется несколько вопросов:**

1. Почему в качестве псевдотипирующего белка был выбран поверхностный белок вируса Марбург? Возможна ли интерполяция данных, полученных с использованием такого псевдовirusа на поверхностный белок других вирусов, например вируса Эбола?
2. Учитывая, что защита диссертации происходит во время распространения новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, относящемуся к микроорганизмам второй группы патогенности, логично возникает вопрос: применяются ли псевдовirusы для исследования поверхностного белка SARS-CoV-2?

**Заключение.** Диссертационная работа Кононовой Алены Александровны «Псевдовirusная система на основе вируса везикулярного стоматита для поиска противовирусных средств, действующих на вирусные поверхностные белки», Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», представляет собой цельное и завершённое исследование, в котором решена проблема

разработки биологически безопасной псевдовирус-клеточной системы для поиска противовирусных средств, действующих на вирусные поверхностные белки.

Работа Кононовой А.А. выполнена на высоком научном и методическом уровне. Достоверность результатов не вызывает сомнения. Сформулированные в работе выводы соответствуют полученным экспериментальным результатам. Автореферат достаточно полно отражает объём и содержание работы. По совокупности полученных результатов, диссертация Кононовой А.А. соответствует требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, и соответствует специальности 03.01.03 – молекулярная биология, а Кононова А.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Официальный оппонент:

Заведующий отделом экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

д.б.н., профессор

Шестопалов А.М.

630117, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, д. 2,

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

shestopalov2@ngs.ru

Подпись д.б.н. Шестопалова А.М. заверяю

Начальник ОК ФГБНУ ФИЦ ФТМ



Минеева О.М.

28.08.2020