

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.255.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ИССЛЕДОВАНИЙ И РАЗРАБОТКИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИМ. М.П. ЧУМАКОВА РАН» (ИНСТИТУТ ПОЛИОМИЕЛИТА) МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 15.12.2023 г. № 20

О присуждении Пиняевой Анастасии Николаевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина» по специальности 1.5.10. – «Вирусология» принята к защите 11.10.2023 г. (Протокол заседания № 17) диссертационным советом 24.1.255.01, созданным на базе ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) Минобрнауки России (108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1), Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации о выдаче разрешения на создание диссертационного совета №188 от 10 марта 2021 г. (с изменениями: Приказ № 127/нк от 15 июня 2023 г. Минобрнауки России).

Соискатель Пиняева Анастасия Николаевна, 27.04.1987 года рождения.

В 2011 году соискатель окончила Московский государственный университет прикладной биотехнологии, технологический факультет, получив степень магистра. В 2020 году Пиняева А.Н. окончила очную аспирантуру ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» по специальности 03.02.02. – «Вирусология» (Справка об окончании очной аспирантуры № 26 от 25 февраля 2021 г. выдана ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), работает младшим научным сотрудником лаборатории биохимии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и

разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Диссертация выполнена в лаборатории биохимии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)

**Научный руководитель** – Ишмухаметов Айдар Айратович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

**Официальные оппоненты:**

Юминова Надежда Васильевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и мониторинга инфекционных заболеваний отдела вирусологии им. О.Г. Анджaparидзе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

Красильников Игорь Викторович – доктор биологических наук, профессор, генеральный директор Акционерного общества «Развитие БиоТехнологий».

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, в своем положительном отзыве, подписанном Людмилой Марковной Цыбаловой, доктором медицинских наук, заведующим отделом вакцинологии, заведующим лабораторией гриппозных вакцин, указала на то, что диссертация Пиняевой Анастасии Николаевны на тему: «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина» является законченным научно-квалификационным исследованием, содержащим решение актуальной научной задачи – разработки высокоэффективных процессов очистки полуфабрикатов инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина и получении доказательств безопасности и иммуногенности препарата, что имеет большое



практическое и теоретическое значение для здравоохранения России. Диссертация Пиняевой А.Н. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.10.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; с изменениями в действующей ред. от 18.03.2023 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

Соискателем опубликовано 12 научных работ, в том числе 4 работы по теме диссертации, включая 2 работы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, 1 - в зарубежном журнале, индексируемом в международных системах (Web of Science, Scopus) и 1 глава в книге.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. Подбор сорбента для очистки концентрата вакцинного штамма полиовируса методом гель-фильтрации / **А.Н. Пиняева**, А.А. Ковпак, Ю.Ю. Ивин, А.А. Шишова, А.А. Сорокин, М.А. Простова, А.В. Белякова, А.А. Синюгина, А.А. Ишмухаметов, Ю.Х. Хапчаев, А.П. Гмыль // Биотехнология. – 2021. – Т. 37. – № 6. – С. 84-94. DOI: 10.21519/0234-2758-2021-37-6-84-94.
2. Применение ионообменной хроматографии при разработке технологии получения инактивированной вакцины против полиомиелита / **А.Н. Пиняева**, А.А. Ковпак, Ю.Ю. Ивин, С.Х. Санджиева, А.А. Шишова, И.О. Целых, В.Е. Василенко, К.В. Каа, Ж.Х. Мажед, Ю.Х. Хапчаев, А.А. Синюгина, А.А. Ишмухаметов // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2022. – Т. 21. – № 5. – С. 107-119. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-5-107-119.
3. Immunogenicity and Safety of Inactivated Sabin-Strain Polio Vaccine “PoliovacSin”: Clinical trials phase I and II / **A. Piniyeva**, G. Ignatyev, L. Kozlovskaya, Y. Ivin, A. Kovpak, A. Ivanov, A. Shishova, L. Antonova, Y. Kharpchaev, I. Feldblum, O. Ivanova, A. Siniugina, A. Ishmukhametov // Vaccines. – 2021. – Т. 9. – № 6. – С. 1-11. DOI: 10.3390/vaccines9060565.
4. Биофармацевтическое производство. Разработка, проектирование и внедрение производственных процессов. Г. Ягшис, Е. Линдског, К. Лаки, П. Галлихер // Пер. с англ. под ред. А. А. Ишмухаметова, Н. В. Пятигорской. Глава 44-1: Процесс производства и масштабирование основных этапов получения полиомиелитных вакцин. А.А. Ишмухаметов, А.А. Синюгина, **А.Н. Пиняева**, Ю.Ю. Ивин, А.А. Ковпак – СПб.: Издательство Профессия, 2020. – Том 2. – С.352-364.

В опубликованных работах приведены результаты экспериментов по очистке концентратов штаммов Сэбина вируса полиомиелита типов 1, 2 и 3 с помощью гель-фильтрации и ионообменной хроматографии. Предложенные модификации очисток позволяют получать инактивированные вирусные препараты, отвечающие требованиям ВОЗ и Европейской Фармакопеи как по биохимическим показателям (содержание ДНК клеток-продуцентов и содержание балластных белков, в том числе белков клеток-продуцентов), так и по показателю специфической активности (содержание D-антигена). Разработанные хроматографические методы очистки стали частью технологии производства инактивированной вакцины против полиомиелита ПолиовакСин. В публикации по клиническим исследованиям новой вакцины приведены результаты двойного слепого плацебо-контролируемого клинического исследования переносимости, реактогенности и безопасности препарата ПолиовакСин на 60-ти добровольцах в возрасте 18-60 лет (I фаза) и двойного слепого сравнительного клинического исследования переносимости, безопасности и иммуногенности препарата ПолиовакСин на двустах добровольцах в возрасте 18-60 лет (II фаза), когда в качестве вакцины сравнения использована Имовакс Полио («Санофи Пастер», Франция). Приведены данные доказывающие, что антитела, индуцируемые вакциной ПолиовакСин, могут нейтрализовать не только штаммы Сэбина, но и дикие штаммы полиовируса. Авторский вклад в опубликованных работах соискателя составляет около 80 %.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы:

1. Исаевой Ольги Владиславовны, доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории вирусных гепатитов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
2. Валуева-Эллистона Владимира Треворовича, кандидата биологических наук, научного сотрудника лаборатории биохимии вирусных инфекций Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда РАН»;



3. Карпова Андрея Павловича, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории клеточной микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
4. Костюшева Дмитрия Сергеевича, кандидата биологических наук, заведующего лабораторией генетических технологий в создании лекарственных средств Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации;
5. Сизиковой Татьяны Евгеньевны, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации.

**В отзывах отмечено,** что в ходе диссертационного исследования разработаны методы хроматографических очисток, позволяющие получать высокоочищенные концентраты полиовируса для производства инактивированной вакцины, определены контролируемые показатели на стадиях хроматографических очисток вирусных концентратов при производстве вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина, получены доказательства безопасности и иммуногенности препарата, производимого по новой технологии, в двух первых фазах клинических исследований.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в вопросах рассмотренной диссертации, большим опытом работы в изучении различных вопросов вирусологии, разработки новых вакцинных конструкторов и тестировании их иммуногенности, известностью специалистов и организации в области изучаемой проблемы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработаны** процессы получения высокоочищенных концентратов полиовирусов (штаммы Сэбина), продуцируемых в культуре клеток Vero, с применением биореакторной технологии.

**предложены** методы проведения хроматографических очисток, которые позволяют получать моновалетные концентраты с высокой степенью извлечения антигена при минимальном содержании технологических примесей;

**доказано**, что разработанные технологические процессы позволяют получать серии инактивированной вакцины против полиомиелита ПолиовакСин, полностью соответствующие требованиям, предъявляемым к иммунобиологическим препаратам;

**введены** критерии оценки эффективности проведения хроматографических очисток вирусных концентратов;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

**доказано**, что предложенные методы хроматографических очисток позволяют получать моновалетные концентраты с высокой степенью извлечения антигена при минимальном содержании технологических примесей;

применительно к проблематике диссертации **результативно использованы** биотехнологические приемы, такие как снятие профиля элюции на сорбентах с разной матрицей и с разным диапазоном фракционирования для эксклюзионной хроматографии и проведение ионообменной хроматографии в градиентном режиме для определения оптимальных режимов хроматографической очистки, которые могут применяться при изучении процессов очисток различных вирусных суспензий;

**изложена** информация о разработанных критериях оценки эффективности, проводимых хроматографических очисток вирусных концентратов;

**изучено** влияние изоэлектрической точки вакцинных штаммов полиовируса и рН элюирующего буферного раствора на степень извлечения целевого антигена при проведении ионообменной хроматографии;

**раскрыты** данные клинических исследований применения полученного вакцинного препарата, доказывающие, что антитела, индуцируемые экспериментальной вакциной ПолиовакСин, обладают нейтрализующей активностью по отношению как к вакцинным штаммам полиовируса типов 1, 2, 3 (штаммы Сэбина LSc 2ab, P712 Ch 2ab, Leon 12a<sub>1</sub>b), так и диким штаммам полиовируса типов 1, 2, 3 (штаммы Mahoney, MEF-1, Saukett);

**проведена модернизация** существующих методов процессов очистки полуфабрикатов инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина.



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

**создана** технология получения высокоочищенных концентратов полиовируса для производства инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина с применением биореакторной технологии. Разработка технологии производства полного цикла данной вакцины позволит обеспечить страну отечественным препаратом, что положительно скажется на эпидемиологическом благополучии населения РФ;

**определены** контролируемые показатели на стадиях хроматографических очисток вирусных концентратов при промышленном производстве вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина, включающие контроль на бактериальные эндотоксины, остаточную клеточную ДНК, бычий сывороточный альбумин, общий белок и содержание D-антигена;

**разработаны и введены в практику** методы хроматографических очисток вирусных концентратов при промышленном производстве вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина в отделении инактивированной полиовакцины ФГАНУ «ФНЦИРИП им М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита);

**представлены** данные клинических исследований доказывающие, что полученный вакцинный препарат, обладает хорошей переносимостью, низкой реактогенностью, высоким профилем безопасности и выраженными иммуногенными свойствами у взрослых добровольцев в возрасте 18-60 лет.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

**для экспериментальных работ** подобран достаточный объем фактического материала для проведения исследования, методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением современных методов, результаты воспроизводятся в различных условиях;

**теория** исследования построена на известных проверенных данных и согласуется с опубликованными работами по теме диссертации;

**идея базируется** на анализе теоретических и практических данных зарубежных ученых в области создания инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина;

**использовано** сравнение авторских данных с полученными результатами зарубежных исследователей;

**установлено**, что результаты исследований согласуются с данными других авторов, представленных в независимых источниках по вопросам клинических исследований инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина.

**использованы** современные методики сбора и обработки исходной информации. Представленный объем материала и качество проведенных исследований являются достаточными для решения поставленных задач и отвечают существующим требованиям, что позволяет рассматривать полученные результаты, научные положения, выводы и рекомендации как обоснованные и достоверные;

Личный вклад соискателя состоит в:

непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Автором самостоятельно проведено планирование, организация всех этапов диссертационного исследования; определены цели и задачи, осуществлена систематизация и сбор первичных данных и их статистическая обработка. Результаты исследования представлены на российских и международных конференциях, подготовлены основные публикации по выполненной работе. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, идейной линии, концептуальности и взаимосвязи выводов. Автором сформулированы основные положения и выводы диссертации. С участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично выстроены на основе полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было.

Соискатель Пиняева А.Н. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании 15.12.2023 г. диссертационный совет принял решение: за успешное решение научной задачи по разработке высокоэффективных процессов очистки полуфабрикатов инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина и получению доказательств безопасности и иммуногенности препарата у взрослых добровольцев в возрасте 18-60 лет, производимого с применением разработанных процессов, имеющие (в совокупности) существенное значение для развития биологической науки и, в



частности, вирусологии, присудить Пиняевой А.Н. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за - 15, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель (заместитель председателя)  
диссертационного совета 24.1.255.01  
профессор, доктор медицинских наук

Е.А. Ткаченко

Ученый секретарь  
диссертационного совета 24.1.255.01  
кандидат биологических наук



А.В. Белякова

«15» декабрь 2023 г.