

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ФГАНУ
«Федеральный научный центр
исследований и разработки
иммунобиологических препаратов»
(Институт полиомиелита)
академик РАН, профессор, д.м.н.



А.А. Ишмухаметов

«30» апреля 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного научного учреждения
«Федеральный научный центр исследований и разработки
иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита).

Диссертация Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, выполнена в лаборатории биохимии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В период подготовки диссертации соискатель Ивин Ю.Ю. в 2010 году начал свою трудовую деятельность с должности лаборанта-исследователя лаборатории биохимии ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов» РАМН, в 2016 году переведен на должность младшего научного сотрудника, а с 2018 года по настоящее время занимает должность научного сотрудника лаборатории биохимии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В 2011 году Ивин Ю.Ю. окончил Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, присвоена квалификация «Специалист по биоинженерии».

В 2014 году Ивин Ю.Ю. окончил аспирантуру факультета биоинженерии и биоинформатики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки» по специальности 03.01.03. – «Молекулярная биология», (справка об окончании аспирантуры и сдаче кандидатских экзаменов № 95 от 25 марта 2024г. выдана МГУ им. М.В. Ломоносова, удостоверение о сдаче кандидатского экзамена по специальности 03.02.02. - «Вирусология» №2/2021 от 01.12.2021 г. выдано ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова).

Научный руководитель – Ишмухаметов Айдар Айратович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор ФГАНУ «Федеральный

научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы:

Диссертация Ивина Юрия Юрьевича является завершённым научным исследованием, выполненном на высоком современном научном уровне. В диссертации содержится решение научной задачи, заключающейся в исследовании роли белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в модификации клеточной смерти при инфекции и ингибировании синтеза клеточных белков.

Актуальность работы.

Настоящая работа посвящена изучению вируса энцефаломиокардита 1 серотипа (EMCV-1), а именно, исследованию свойств белков L и 2A, которые играют важнейшую роль во взаимодействии с клеточным иммунитетом. EMCV-1 является представителем семейства *Picornaviridae*, одного из самых больших семейств патогенов человека и других позвоночных животных. EMCV-1, наряду с вирусом полиомиелита и вирусом ящура, является модельным представителем семейства, изучение которого позволяет раскрывать принципы взаимодействия вирусов рода *Cardiovirus* и семейства *Picornaviridae*, в целом, с иммунитетом и клеточными системами. Среди представителей рода *Cardiovirus*, ближайших родственных вирусов для EMCV-1, известны патогены человека: вирус Саффолд и вирус виллойского энцефалита, вызывающие серьезные заболевания сердечно-сосудистой, нервной и пищеварительной систем. Благодаря развивающимся диагностическим методам, в последние годы показано, что вирус Саффолд имеет широкую распространенность. Несмотря на то, что в настоящее время эти вирусные патогены не входят в список особо значимых для популяции, распространенность и опасность этих вирусов и новых родственных им вирусов предсказать сложно. Поэтому изучение потенциально опасной группы вирусов, которой является род *Cardiovirus*, несомненно является актуальной задачей. Актуальной проблемой для свиного животноводства является отсутствие вакцины против EMCV, который заражая новорожденных поросят, может вызвать их гибель. Поэтому изучение этого вируса, особенно создание и характеристика ослабленных мутантов, какими являются штаммы, полученные в ходе настоящей работы, имеет важное значение для ветеринарии.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

Автором проведен анализ литературы, изучена степень разработанности проблемы с определением цели, задач исследования. Дизайн исследования был разработан при непосредственном участии автора. Результаты, представленные в данной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор лично провёл статистическую обработку, сформулировал основные положения и выводы диссертации.

Лично или с участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования. В целом, личный вклад в выполнение диссертационного исследования составляет - 90%.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность полученных в ходе диссертационной работы данных определяется достаточным числом исследований, высоким методологическим уровнем, комплексным подходом к проведению исследований и статистической обработке полученных результатов. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы. Материалы исследования были представлены и обсуждены в 3 докладах на 3 международных конференциях: Europic 2012 («Uncoupling EMCV-induced injuries from viral reproduction by mutual cell/virus disarmament»), Сан-Рафаэль, Франция, 3–7 июня 2012г.); конференция Europic 2014 («Two cardiovirus security proteins exhibit distinct antiapoptotic activities which are partly host-specific»), Бланкенберг, Бельгия 9–14 марта 2014 г.); конференция Virology Africa 2020 («Cardiovirus security proteins L and 2A exhibit antiapoptotic activities which are partly host-specific»), Кейптаун, ЮАР, 10–14 февраля 2020 г.)

Научная новизна.

В ходе настоящего исследования был впервые получен жизнеспособный вирус энцефаломиокардита лишенный активных белков L и 2A, что доказало факультативную роль этих белков в размножении вируса. Используя подход, заключающийся в инфицировании клеточных линий мутантными штаммами вируса энцефаломиокардита, было показано отсутствие влияния белка 2A на течение трансляционных процессов в зараженных клетках, чем была опровергнута общепринятая концепция, по которой белок 2A участвует в ингибировании клеточной трансляции. В ходе экспериментов было обнаружено постадийное ингибирование клеточной трансляции в течение инфекции вирусом энцефаломиокардита, зависимое от активности белка L. Впервые было изучено влияние белков L и 2A на развитие клеточной гибели зараженной клетки в экспериментах с использованием нескольких культур линий различного происхождения. Выявлена зависимость активности белков L и 2A и типа клеточной смерти в трех клеточных культурах. Показана возможность ингибирования развития патологических процессов в зараженных клетках путем подавления развития апоптотической программы и нарушения работы вирусных секьюрити-белков.

Практическая значимость.

Вирус энцефаломиокардита 1 серотипа является модельным объектом, используемым для изучения свойств пикорнавирусов и представителей рода *Cardiovirus*, в частности. Вирус энцефаломиокардита является опасным патогеном сельскохозяйственных и диких животных, в частности свиней, слонов, обезьян. Этот вирус может быть причиной смерти до 50-80% новорожденных поросят, вызывая

заболевания сердечно-сосудистой и нервной систем, поэтому изучение свойств EMCV-1 имеет потенциальную значимость для сельского хозяйства. В частности, некоторые исследователи отмечают, что отсутствие вакцины против EMCV-1 оказывает негативный экономический эффект на свиное животноводство. Исследования, проводимые в настоящей работе с использованием мутантных EMCV-1, потенциально, могли бы стать теоретической основой создания вакцины против EMCV-1. В настоящее время известно два представителя рода *Cardiovirus*, вызывающие заболевания человека. К ним относятся вирус Саффолд и вирус виллойского энцефалита, вызывающие заболевания ЖКТ и нейродегенеративные заболевания, соответственно. Свойства этих патогенов изучены слабо, однако, являясь родственными к EMCV-1 вирусам, знания об исследуемом вирусе потенциально можно экстраполировать на данные патогены человека. Кроме того, подход, примененный в настоящей работе, заключающийся в создании мутантных вирусов по белкам L и 2A, можно применить и для вирусов виллойского энцефалита или Саффолд.

Научная специальность, которой соответствует диссертация.

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология, биологические науки и направления исследования. Пункту 3 - исследование морфологии и морфогенеза вирусов, особенностей репродукции вирусов и их взаимоотношений с восприимчивыми к вирусам клеткам. Стратегия вирусного генома. Пункту 4 - молекулярная биология вирусов, структурно-функциональная биология вирусных белков. Структура и экспрессия вирусных геномов. Эволюция вирусов и их разнообразие. Генетика и геномика вирусов. Популяционная генетика. Пункту 6 - проблемы патогенности вирусов, цитопатологии инфицированных вирусом клеток и тканей, изучение патогенеза вирусных инфекций, путей проникновения вируса в организм и распространения вирусов в организме. Пункту 7 - изучение противовирусного иммунитета, иммунохимические исследования вирусных антигенов, изучение гуморального, клеточного иммунитета и иммунопатологических реакций.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Научная деятельность Ивина Ю.Ю. отражена в 17 научных работах, основные результаты диссертационного исследования полностью отражены в печати, опубликованы в 3 рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) и соответствуют требованиям категорирования журналов, в которых должны быть опубликованы научные результаты диссертационного исследования: 1 печатная работа в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК, 2 печатные работы в журналах, индексируемых в библиографических базах данных – Web of Science, Scopus, PubMed.

Научные результаты диссертации отражены в следующих научных статьях:

1. Suppression of Injuries Caused by a Lytic RNA Virus (Mengovirus) and Their Uncoupling from Viral Reproduction by Mutual Cell/Virus Disarmament/ O. V. Mikitas, Y.Y. Ivin, S.A. Golyshev [et al.] // Journal of Virology. – 2012. – Vol. 86. – № 10. – P. 5574-5583. DOI: 10.1128/JVI.07214-11. (Web of Science, Scopus, Pub Med, Q - 1)

2. Роль белков L и 2A вируса энцефаломиокардита типа 1 в ингибировании синтеза клеточных белков и накоплении вирусных белков при инфекции / Ю.Ю. Ивин, А.А. Бутусова, Е.Е. Гладнева [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2023. – Vol. 68. – № 5. – P. 428-444. DOI: 10.36233/0507-4088-195. (ВАК, К - 1)

3. Comprehensive Elucidation of the Role of L and 2A Security Proteins on Cell Death during EMCV Infection / Y. Ivin, A. Butusova, E. Gladneva [et al.] // Viruses. – 2024. – Vol. 16. – № 2. – P. 280. DOI: 10.3390/v16020280. (Web of Science, Scopus, Pub Med, Q1)

Диссертация проверена в системе «Антиплагиат.Эксперт». В диссертации соблюдены ссылки на авторов и источники заимствования материала. Доля личного участия в получении, обобщении, анализе и интерпретации вирусологических экспериментальных данных – в пределах 97%.

Общее заключение.

Диссертационное исследование Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии» является законченной научно-квалификационной работой. В диссертационной работе научно обоснована и наглядно показана функциональная роль белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в регуляции синтеза клеточных и вирусных белков, а также в модификации клеточной смерти в ходе инфекции. Показана и описана возможность ингибирования процесса гибели клеток при инфицировании вирусом энцефаломиокардита путем одновременного подавления функционирования секьюрити-белков и развития апоптотической программы.

Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные данные и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов. Достоверность результатов подтверждена корреляцией полученных практическими методами данных с теоретическими заключениями.

Диссертация Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14, Положения «О порядке присуждения 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.; №650 от 29.05.2017 г.;

№1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; №101 от 26.01.2023 г.; с изменениями в действующей ред. №62 от 25.01.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, ученой степени кандидата наук и может быть рекомендована к защите.

Заключение организации, где выполнялось диссертационное исследование Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии» принято на заседании научной экспертной комиссии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Присутствовало на заседании 20 членов комиссии (имеющих ученую степень доктора наук – 13 членов, кандидата наук – 7 членов) из 24 списочного состава научной экспертной комиссии.

Результаты голосования:

«За» – 20 членов комиссии;

«Против» – нет;

«Воздержалось» – нет;

Протокол заседания № 2 от 9 апреля 2024 г.

Председатель научной экспертной комиссии
руководитель научного направления учреждения,
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита), доктор медицинских наук,
профессор, Заслуженный деятель науки РФ

Евгений Александрович Ткаченко

Секретарь научной экспертной комиссии
ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
кандидат биологических наук

Алла Владимировна Белякова

Подписи проф., д.м.н. Ткаченко Е.А., к.б.н. Беляковой А.В. удостоверяю.

Начальник отдела кадров
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)



А.И. Симакова

«30» апрель 2024 г.