

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, члена-корреспондента РАН, директора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Забережного Алексея Дмитриевича на диссертацию Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы исследования

Изучение взаимодействия вирусов с клеткой - одно из наиболее актуальных и интересных направлений вирусологии, поскольку вносит существенный вклад в понимание механизмов патологического действия вирусов, а также особенностей функционирования различных клеточных систем. Важным аспектом является исследование функциональности неструктурных вирусных белков, которые напрямую участвуют во взаимодействии с клеточными системами. Целью настоящего исследования являлось изучение в рамках одной экспериментальной системы роли белков L и 2A модельного вируса энцефаломиокардита 1 серотипа в процессе гибели зараженных клеток и модификации трансляционных процессов. Для достижения цели были поставлены следующие задачи исследования: получить и охарактеризовать мутантные EMCV-1 по белку 2A и по белкам L и 2A одновременно; изучить трансляционную активность в клетках HeLa и ВНК-21 при инфекции мутантными EMCV-1 по L и 2A белкам; изучить особенности гибели клеточных культур HeLa, ВНК-21 и RD при инфекции мутантными EMCV-1 по L и 2A белкам; изучить возможность ингибирования развития патологических процессов в зараженных клетках при подавлении развития апоптоза и работы вирусных противовозрастных механизмов.

В результате выполненных теоретических и экспериментальных исследований автором решена проблема в части разработки экспериментального подхода для исследования роли неструктурных белков EMCV и других вирусов.

Научная новизна

Исследование роли белков EMCV при помощи обратной генетики с использованием инфекционных клонов вируса описано ещё в 1998 г. Позднее были описаны изучаемы в работе вирусы с модифицированными белками 2A и L (2011 и 2009 гг. соответственно), причём было установлено, что инфекция вызывает запрограммированную гибель клеток (апоптоз). Диссертационная работа Ивина Ю.Ю. содержит ряд новых научных положений. Впервые получен жизнеспособный EMCV-1 с функционально инактивированными обоими секьюрити-белками L и 2A, что доказало факультативную роль секьюрити-белков в размножении вируса энцефаломиокардита. С использованием двух клеточных культур разного происхождения (HeLa и ВНК-21) показано отсутствие влияния белка 2A на течение трансляционных процессов в зараженных клетках. Обнаружено постадийное ингибирование клеточной трансляции в течение инфекции, зависимое от присутствия в геноме активного белка L.

Впервые с использованием нескольких клеточных линий показано, что тип клеточной смерти при инфекции EMCV-1 зависит как от активности белков L и 2A, так и от типа культуры клеток. Выявлена зависимость активности секьюрити-белков и типа клеточной смерти в трех клеточных культурах.

Впервые описана гибель клеток при кардиовирусной инфекции, сочетающая некротические и апоптотические признаки. Показана возможность ингибирования развития патологических процессов в зараженных клетках путем подавления развития апоптотической программы и нарушения работы вирусных секьюрити-белков при активном вирусном размножении.

Обоснованность и достоверность полученных положений и выводов

Все полученные автором результаты сопоставимы с исследованиями, представленными в научной литературе в указанной области, на основании чего можно судить о новизне и приоритетности материалов диссертации.

Достоверность полученных результатов в исследовании Ивина Ю.Ю. и сделанных на их основе выводов не вызывает сомнений. Результаты, представленные в диссертационном исследовании, обеспечивают доказательность положений, выносимых на защиту.

Общая оценка работы

Диссертация Ивина Ю.Ю. имеет традиционную структуру, изложена на 133 страницах компьютерного текста, иллюстрирована достаточным количеством рисунков и таблиц (44 рис., 7 таб.). В главе «Обзор литературы» проанализированы 192 научные работы, автор продемонстрировал глубокое понимание современной значительно усложнившейся таксономии вирусов, подробно раскрыл характеристики пикорнавирусов, структурные и функциональные особенности изучаемых белков, описал клеточные и молекулярные механизмы, имеющие отношение к теме диссертации. Обзор литературы следует признать образцовым с точки зрения подбора материала. В нём содержится вся необходимая и достаточная информация для постановки цели и задач исследования, для понимания всей дальнейшей работы. К сожалению, в литературном обзоре нет раздела «заключение», где автор мог бы еще раз сфокусировать внимание на необходимости постановки задач исследования.

Автором проведён большой объём экспериментальной работы, что отражено на 20 страницах в разделе «Материалы и методы». Все вирусы с делециями в генах изучаемых белков получены самостоятельно в ходе работы путём генной инженерии и обратной генетики. Применены адекватные и сложные экспериментальные методы изучения трансляционных процессов и клеточной гибели при вирусной инфекции. Используются классические вирусологические методы с применением разных клеточных линий. Раздел «Результаты» составлен полно, проведены сложные комплексные исследования. Раздел содержит качественные наглядные материалы по результатам радиоавтографии, морфологического анализа, анализа проницаемости мембран и др. Следует отметить аккуратное и тщательное планирование и проведение экспериментов. Разделы «Обсуждение» и «Заключение» написаны полно и отражают научную зрелость автора.

В целом диссертацию Ивина Ю.Ю. следует оценить, как работу с обоснованными выводами, которые вытекают из анализа представленных материалов собственных исследований и анализа литературных данных. Проведенный автором анализ свидетельствует о его компетентности в изучаемой

области, аргументирует цель работы и позволяет оценить степень новизны результатов. Важно отметить большой объем диссертационного исследования и новизну полученного материала, а также внутреннее единство диссертации. Следует также дать высокую оценку профессиональному стилю изложения научного текста и очень малому количеству опечаток.

Материалы диссертации были представлены на следующих конференциях: международная конференция Europic 2012 («Uncoupling EMCV-induced injuries from viral reproduction by mutual cell/virus disarmament», Сан-Рафаэль, Франция, 3–7 июня 2012 г.); 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.).

Основные результаты диссертационного исследования полностью отражены в печати. По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы: 1 в рецензируемом научном издании, входящем в перечень журналов, рекомендованных ВАК, 2 в журналах, индексируемых в международных библиографических базах данных – Web of Science, Scopus, PubMed.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология, а результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 3, 4, 6 и 7 паспорта специальности.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам и согласуются с основными результатами проведенного исследования.

Замечания и вопросы

Несмотря на высокую оценку работы необходимо выделить ряд замечаний и вопросов:

1. Отсутствует заключение по обзору литературы, которое содержало бы краткое обоснование постановки задач.

2. Положения, выносимые на защиту, сформулированы скорее в виде научных выводов, что не снижает их достоинства. Привычнее выглядит формулировка «Что именно изучено», а результаты изучения – в тексте и в выводах.

3. Возможно ли одновременное введение белков, отсутствующих в инфицированных модифицированным вирусом клетках *in trans* при помощи эукариотических плазмид с целью дополнительного подтверждения описанных эффектов?

4. Автор пишет о возможности создания кандидатных живых вакцин против вируса энцефаломиокардита для сельскохозяйственных животных. Какие животные имеются в виду? Готов ли автор обосновать актуальность этого направления и начать сотрудничество с ветеринарными исследовательскими центрами?

Приведённые замечания и заданные вопросы не снижают высокого качества диссертации и её положительной оценки.

Заключение

Диссертационное исследование Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии», по актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации их достоверности и новизне, 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 Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии» 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, а ее автор Ивин Юрий Юрьевич, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Официальный оппонент:

Директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности»

доктор биологических наук (03.00.06. Вирусология),

профессор, член-корреспондент РАН

e-mail: zaberezhny@mail.ru

тел. +7 (495) 785-8425



Алексей Дмитриевич Забережный

141142, Московская область, городской округ Лосино-Петровский, пос. Биокомбината, стр. 17, к.1

Подпись официального оппонента д.б.н., проф., чл.-корр. РАН

Забережного А.Д. заверяю.

Ученый секретарь ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности»

кандидат сельскохозяйственных наук

Е.В. Маркова

«11» октября 2024 г.