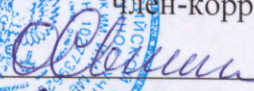


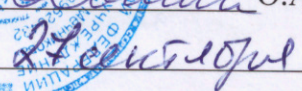


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова,  
член-корр. РАН, д.м.н.

 О.А. Свитич

 2024 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 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 научной специальности 1.5.10. Вирусология

### Актуальность темы диссертационной работы

Диссертация Ивина Ю.Ю. посвящена исследованию свойств и функций секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита 1 серотипа (EMCV-1) и механизмов их взаимодействия с клеточным иммунитетом. EMCV-1 относится к виду *Cardiovirus rueckerti* (род *Cardiovirus*, семейство *Picornaviridae*), и способен заражать разные виды млекопитающих, вызывая развитие миокардита, энцефаломиелита и диабета, и часто используется в качестве модельного представителя семейства. Вспышки заболеваний, вызванных этим вирусом, являются одной из важных проблем свиноводства.

В геноме клетки закодировано множество белков, формирующих систему внутриклеточного иммунитета, направленную на подавление репродукции вируса и распространения его в соседние клетки. Эти белки вовлечены в интерфероновый ответ, запуск апоптотической программы, развитие индуцируемого клеточного стресса и другие процессы. В ответ вирусы эволюционно выработали механизмы противодействия защитным системам клетки, способствующие эффективному размножению вируса, опосредуемые вирусными факторами вирулентности, или секьюрити-белками. Одной из важнейших функций секьюрити-белков является участие в модификации типа клеточной смерти. Роль секьюрити-белков пикорнавирусов изучена недостаточно, представленные в научной литературе данные о функциях этих белков зачастую противоречивы, а механизм функционирования обоих белков остается неясным. Автор диссертации справедливо отмечает, что для более

глубокого и системного изучения функций обоих белков требуется использовать подход, который основан на инактивации секьюрити-белков по отдельности и совместно путем внесения мутаций в геном EMCV-1 и последующем сравнении свойств полученных мутантов. Исследование роли секьюрити-белков L и 2A EMCV-1 повышает уровень понимания биологии пикорнавирусов и молекулярных основ вызываемых ими заболеваний. Кандидатская диссертация Ивина Ю.Ю. имеет большую теоретическую значимость, поскольку полученные результаты являются ключом к пониманию механизмов ускользания пикорнавирусов от факторов клеточного иммунитета. В связи с вышеизложенным, актуальность темы диссертации Ивина Ю.Ю. не вызывает сомнений.

### **Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов**

Научная новизна диссертации, заключается в том, что Ивиным Ю.Ю. был впервые получен жизнеспособный EMCV-1 с функционально инактивированными обоими секьюрити-белками L и 2A. Это позволило доказать факультативную роль секьюрити-белков в размножении вируса энцефаломиокардита. На клеточных культурах разного происхождения (HeLa и ВНК-21) показано, что белок 2A не влияет на процессы трансляции в зараженных клетках, тогда как присутствие в геноме гена активного белка L обуславливает ингибирование клеточной трансляции. Автор впервые продемонстрировал, 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. Также в диссертации 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.

### **Теоретическая и практическая значимость полученных результатов**

Полученные диссертантом данные о влиянии белков L и 2A EMCV-1 на синтез клеточных и вирусных белков и выбор типа клеточной смерти при вирусной инфекции имеют фундаментальное значение для понимания процессов, протекающих в клетке, зараженной как представителями рода *Cardiovirus*, так и пикорнавирусами, относящимися к другим родам. Моделирование взаимодействия пикорнавирусов с клеткой с вирусом EMCV-1 полезно и для изучения свойств аналогичных белков других групп вирусов. В

диссертации показано, что ингибирование программы апоптоза и нарушение функционирования секьюрити-белков подавляет развитие цитопатологических процессов при сохранении способности вируса к размножению. Это наблюдение не только раскрывает природу гибели клетки при вирусной инфекции, но также имеет потенциальную практическую значимость, так как может положить начало новому комплексному подходу к лечению вирусных заболеваний. Гибель зараженной вирусом клетки становится управляемой, что открывает возможности разработки этиотропных противовирусных препаратов. Вместо мутаций активных центров секьюрити-белков можно использовать химическую инактивацию их функций, управляя программами гибели и развитием клеточной патологии. Кроме того, полученные мутанты EMCV-1, имеющие функционально инактивированные секьюрити-белки, обладают аттенуационным фенотипом, что позволяет рассматривать получение подобных мутантов как перспективный подход к созданию живых аттенуированных вакцин против кардиовирусных заболеваний. Разработанный диссертантом подход, заключающийся в создании вирусных мутантов по исследуемым белкам с последующей адаптацией к клеточным культурам, может быть применен для изучения свойств секьюрити-белков других вирусов.

**Личный вклад автора** заключается в непосредственном участии в выполнении всех разделов данного исследования, а также в проведении анализа полученных данных и представлении результатов на конференциях и в виде научных публикаций.

#### **Достоинства и недостатки содержания и оформления работы**

Диссертация написана в хорошем научном стиле, изложена на 133 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов, результатов исследований и обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 192 источника литературы. Работа иллюстрирована 7 таблицами и 44 рисунками.

Во введении сформулирована цель работы - 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. Все запланированные задачи соответствовали цели исследования и были выполнены в полной мере.

В обзоре литературы дана как общая характеристика семейства *Picornaviridae*, так и основные молекулярно-биологические характеристики вируса энцефаломиокардита 1 серотипа, в том числе использованного в работе

штамма Менго; дана характеристика секьюрити-белков пикорнавирусов и белков L и 2A вируса EMCV-1; описаны закономерности изменения клеточной трансляции при пикорнавирусной инфекции и раскрыты модификации клеточной гибели при пикорнавирусной инфекции, в том числе подробнее рассмотрены апоптотическая и некротическая гибель.

Глава «Материалы и методы» дает достаточное представление о технической стороне работы, подробно описывает использованные в работе методики. Важным достоинством диссертационной работы является использование не только классических методов вирусологии, но и современных молекулярно-биологических методов, в том числе методов обратной генетики для направленной модификации пикорнавирусного генома.

Глава «Результаты» состоит из 4 разделов, соответствующих поставленным задачам и цели. Все результаты сопровождаются информативным материалом в графическом или табличном формате и обсуждением. Результаты исследований показали важность секьюрити-белков L и 2A для патогенеза EMCV-1 и обеспечения эффективного размножения вируса, а также выявили принципиальную возможность воздействия на функциональную активность клеточных и вирусных белков, принимающих участие в процессе гибели клеток. Полученные результаты имеют не только большую теоретическую, но и практическую значимость, поскольку открывают возможность сдерживать патологические процессы, развивающиеся внутри клетки в ходе пикорнавирусной инфекции.

В главе «Заключение» диссертант обобщает и анализирует результаты исследований, подтверждает важность и актуальность полученных данных, а также указывает возможные области их применения.

Диссертация завершается выводами, которые демонстрируют достижение соискателем цели и поставленных в работе задач.

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

### **Апробация работы и публикации**

Основные результаты диссертационного исследования полностью отражены в научных публикациях. По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы: 1 в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК, 2 в журналах, индексируемых в международных библиографических базах данных – Web of Science, Scopus, PubMed. Материалы работы представлены и обсуждены на международных научно-практических конференциях: EuroPic 2012,

Сан-Рафаэль, Франция, 3–7 июня 2012 г.; Europic 2014, Бланкенберг, Бельгия 9–14 марта 2014 г.; Virology Africa 2020, Кейптаун, ЮАР, 10–14 февраля 2020 г.

### **Степень достоверности и обоснованности представленных данных, положений, выносимых на защиту и выводов**

Достоверность и обоснованность представленных в диссертационной работе данных обусловлена достаточным числом исследований, комплексным подходом к проведению исследования, корректным выбором широкого спектра современных методических подходов, строгими условиями проведения опытов, использованием сразу нескольких чувствительных культур клеток, адекватно подобранными методами статистической обработки полученных данных, а также наличием повторов в экспериментах. Объем материала, использованный в исследовании, достаточен для получения достоверных результатов. Положения, выносимые на защиту, сформулированные автором, являются логически обоснованными, полученные данные сопоставлены с результатами других исследователей. Все выводы диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы.

### **Общие замечания по диссертационной работе**

Представленная работа не лишена ряда недостатков, к которым можно отнести наличие незначительного количества опечаток и неточностей в формулировках. Указанные недостатки не снижают научной значимости диссертационной работы.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Ишмухаметова Айдара Айратовича, и представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, является законченным научно-квалификационным исследованием, содержащим решение актуальной научной задачи – исследование механизмов ускользания пикорнавирусов от факторов клеточного иммунитета, и имеет большое теоретическое и практическое значение.

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.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании Ученого совета ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол №4 от 19 сентября 2024 г.).

Научный руководитель института  
академик РАН, профессор, д.б.н.  
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова  
e-mail: vitalyzverev@outlook.com  
тел: +7(495)917-49-00



Виталий Васильевич Зверев

Подпись Научного руководителя института В.В. Зверева заверяю.  
Ученый секретарь ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова

«27» сентября 2024 г.



А.В. Васильева

Адрес: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 105064, Российская Федерация, Москва, Малый Казенный пер, дом 5А. Тел.: +7 (495) 917-49-00. Факс +7 (495) 917-49-00, <http://www.instmech.ru/>, e-mail: [mecch.inst@mail.ru](mailto:mecch.inst@mail.ru)