

Заключение комиссии диссертационного совета 24.1.255.01 на базе Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по диссертации Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

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).

Диссертация Ивина Юрия Юрьевича посвящена изучению свойств белков L и 2A вируса энцефаломиокардита 1 серотипа (EMCV-1) в развитии клеточной смерти и модификации трансляционных процессов в клетке при вирусной инфекции. Методологическая основа работы заключалась в получении вирусов энцефаломиокардита, мутантных по белкам L и 2A, и сравнении их свойств между собой и с вирусом дикого типа. Впервые был получен жизнеспособный вирус энцефаломиокардита с инактивированными белками L и 2A одновременно, что доказало факультативную роль этих белков в размножении исследуемого вируса. Эксперименты проводились с использованием нескольких клеточных линий - HeLa, ВНК-21 и RD, что повысило достоверность и обоснованность полученных результатов. Показано, что белок 2A не влияет на процесс ингибирования синтеза клеточных белков в зараженной клетке, в то время как белок L принимает участие в моделировании синтеза клеточных белков в клетках HeLa. Впервые было продемонстрировано, что в ходе инфекции происходит двухстадийное подавление синтеза белков: 1) специфическое подавление синтеза клеточных белков, 2) полное ингибирование белковой трансляции, которая сопровождается фосфорилированием eIF2 α . Обнаружено, что в отсутствие функционального белка L полная блокировка всего белкового синтеза, включая вирусные белки, происходит быстрее.

Эксперименты по изучению клеточной смерти при инфекции EMCV-1 показали, что оба белка L и 2A влияют на пути активации каспаз, оказывая влияние на тип гибели клеток. Установлено, что нарушение функциональности белка L ведет к развитию вследствие апоптоза гибели клеток HeLa и RD, но не ВНК-21. Частичная делеция в последовательности, кодирующей белок 2A, ведет

к апоптозу зараженных клеток RD и ВНК-21, а в клетках HeLa развивается каспазозависимая гибель, сопровождающаяся признаками пироптоза.

В ходе работы была продемонстрирована возможность ингибирования развития признаков клеточной смерти и сохранения метаболической активности клеток, зараженных вирусом энцефаломиокардита, а также отсутствие прямой корреляции между эффективным вирусным размножением и гибелью клеток.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что полученные фундаментальные знания о функциональности белков L и 2A EMCV-1 углубили представления о взаимодействии вирусов рода *Cardiovirus* семейства *Picornaviridae* с клетками. Полученные знания могут быть применены для изучения секьюрити-белков других представителей рода *Cardiovirus*. Практическая значимость работы заключается в том, что изученные свойства мутантных штаммов EMCV-1 по белкам L и 2A могут стать теоретической основой для создания аттенуированных вакцин против EMCV или других кардиовирусов. Показанная в работе возможность ингибирования развития патологических процессов в клетках, зараженных пикорнавирусом, может стать основой нового подхода для противовирусной терапии.

Комиссия диссертационного совета отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

определен подход для изучения функций вирусных белков, относящихся к группе секьюрити-белков или факторов вирулентности. Подход заключается в конструировании мутантных вирусов и их адаптации к используемой экспериментальной клеточной модели для получения эффективно размножающихся экспериментальных пулов;

установлено, что функциональная инактивация обоих белков L и 2A по отдельности или совместно не ведет к полной потере жизнеспособности EMCV-1;

представлены данные, доказывающие, что белок L способствует специфическому ингибированию синтеза клеточных белков и ингибирует развитие неспецифического подавления общей трансляции в инфицированных клетках HeLa;

выявлено, что белок 2A EMCV-1 не участвует в регуляции синтеза клеточных белков в зараженных клетках HeLa и ВНК-21;

получены данные, подтверждающие запуск каспазозависимой гибели зараженных клеток ВНК-21, HeLa и RD при ингибировании активности белка 2A EMCV-1. При ингибировании функций белка L каспазозависимая гибель активируется при инфекции клеток HeLa и RD;

получены данные, подтверждающие возможность ингибирования запуска клеточной гибели при инфекции EMCV-1 при одновременном подавлении

активации каспаз и функционирования секьюрити-белков, играющих антиапоптозную роль в зараженных клетках;

использованы современные методы исследования, применен адекватный дизайн и статистические методы обработки полученных данных, а объем и качество проанализированного материала являются достаточными для решения поставленных задач и получения репрезентативных данных.

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.

Использование современных методологических подходов, статистическая обработка данных, объективность в изложении концептуальных положений диссертации, аргументированная интерпретация научных результатов и выводов позволяют считать результаты диссертационного исследования достоверными и обоснованными. В работе были использованы вирусологические и молекулярно-биологические методы.

Диссертация соответствует специальности 1.5.10. Вирусология (биологические науки) и профилю диссертационного совета 24.1.255.01. Диссертация не содержит недостоверных сведений в опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Достоверность результатов подтверждена корреляцией полученных практическими методами данных с теоретическими заключениями. Текст диссертации, представленный в диссертационный совет, идентичен тексту диссертации, размещенному на сайте ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Проведенный анализ отчета системы «Антиплагиат.Эксперт» показал, что автором рукописи диссертации были правомерно использованы ранее опубликованные тексты в объемах, оправданных целями цитирования, с указанием необходимых ссылок на используемые источники информации и соблюдением авторских прав правообладателей. Неправомерных совпадений нет (показатель совпадения - 0%). Другие показатели распределены следующим образом: цитирования – 5,09%; самоцитирования – 15,56%, оригинальность

74,44%. Долю уникального авторского текста в работе следует определять, как сумму показателей самоцитирования и оригинальности, что составляет 90%.

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты. По материалам диссертации опубликованы 3 печатные работы: 1 в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК, 2 в зарубежных журналах, индексируемых в международных системах (Web of Science, Scopus, PubMed).

Комиссия диссертационного совета пришла к выводу о том, что диссертация Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии» представляет собой научно-квалификационную работу, по объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости 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.

В качестве официальных оппонентов рекомендуются:

Забережный Алексей Дмитриевич – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» (Московская область, городской округ Лосино-Петровский, пос. Биокомбината, д. 17).

Иванов Александр Владимирович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биохимии вирусных инфекций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва, ул. Вавилова, д. 32,).

В качестве ведущей организации рекомендуется назначить:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Россия, Москва, Малый Казенный переулок, д.5А)

Заключение: комиссия Диссертационного совета 24.1.255.01 рекомендует диссертацию Ивина Юрия Юрьевича на тему: «Роль секьюрити-белков L и 2A

вируса энцефаломиокардита в развитии клеточной патологии» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология принять к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 24.1.255.01:

Председатель комиссии:

Заведующий лабораторией биологии арбовирусов
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
профессор, доктор биологических наук

Г.Г. Карганова

Члены комиссии:

Ведущий научный сотрудник лаборатории
моделирования иммунобиологических процессов
с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
профессор РАН, доктор биологических наук

К.К. Кюрегян

Ведущий научный сотрудник лаборатории
полиомиелита и других энтеровирусных инфекций
с референс-центром ВОЗ по надзору за полиомиелитом
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
доктор медицинских наук

О.Е. Иванова

Подписи: проф., д.б.н. Г.Г. Каргановой, проф. РАН, д.б.н. К.К. Кюрегяна,
д.м.н. О.Е. Ивановой удостоверяю.

Ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
кандидат биологических наук



А.В. Белякова

«18» августа 2024 г.