

**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 Барышниковой Виктории Сергеевны на тему: «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка Е», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология**

Научный руководитель:

Тучинская Ксения Константиновна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологии арбовирусов Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Диссертация Барышниковой Виктории Сергеевны посвящена разработке методики получения рекомбинантных белков dI+II, dIII, sE вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) штамма Сухар и sE вакцинного штамма Софьин и исследованию их использования в качестве иммуносорбентов в диагностическом иммуноферментном анализе (ИФА). Методологическая основа работы заключалась в подборе условий получения рекомбинантных белков в количестве и качестве, необходимом для проведения серодиагностических исследований, и разработке лабораторной методики ИФА на их основе. В работе проведена оценка эффективности и специфичности разработанной диагностической методики с использованием сывороток лабораторных животных и человека, содержащих антитела к ВКЭ и другим ортофлавивирусам.

В рамках диссертационной работы впервые были получены рекомбинантные белки sE, dI+II и dIII штамма Сухар сибирского подтипа ВКЭ, широко распространенного на территории Российской Федерации, а также рекомбинантный белок sE вакцинного штамма Софьин дальневосточного подтипа. Также впервые была показана способность разработанной диагностической методики ИФА на основе полученных рекомбинантных белков sE и dIII выявлять антитела к штаммам ВКЭ, относящимся к различным подтипам и изолированным в разных регионах России и Европы в разное время (1937-2017 гг.). Впервые показана высокая чувствительность рекомбинантного белка sE при выявлении антител к ВКЭ и его специфичность в дифференциации антител к ВКЭ от антител к другим ортофлавивирусам: вирусам Западного Нила, Лангат, денге, Повассан, желтой лихорадки, Зика и японского энцефалита. Впервые разработана диагностическая методика ИФА на основе рекомбинантных белков ВКЭ выявлять специфические антитела к ВКЭ на фоне уже имеющихся антител к другим ортофлавивирусам.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений об особенностях формирования гуморального иммунного ответа человека и лабораторных животных к различным доменам белка Е и диагностической значимости отдельных

рекомбинантных доменов при выявлении антител к ВКЭ. Получены новые данные о спектре антител, формирующихся у различных видов животных и человека после инфекции или вакцинации против клещевого энцефалита.

Практическая значимость работы заключается в разработке протокола получения и очистки рекомбинантных белков sE, dI+II и dIII ВКЭ и создании лабораторной диагностической методики ИФА, обеспечивающей высокую чувствительность и специфичность при выявлении антител к ВКЭ. Разработанная диагностическая методика может быть использована в качестве основы для создания коммерческой тест-системы для дифференциальной серодиагностики клещевого энцефалита или оценки иммунного статуса.

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

**определены** оптимальные условия получения рекомбинантных белков sE, dI+II и dIII вируса клещевого энцефалита штамма Сухар в бактериальной системе экспрессии, включающие подбор питательной среды, концентрации индуктора экспрессии, условий солюбилизации и очистки белков;

**установлено**, что рекомбинантные белки sE и dIII штамма Сухар обладают высокой диагностической ценностью и обеспечивают выявление антител к широкому спектру штаммов вируса клещевого энцефалита, относящихся к европейскому, дальневосточному, сибирскому, байкальскому-1 и байкальскому-2 подтипам;

**представлены** данные, показывающие, что разработанная диагностическая методика иммуноферментного анализа на основе рекомбинантного белка sE характеризуется высокой эффективностью выявления антител к вирусу клещевого энцефалита в сыворотках лабораторных животных и человека;

**выявлено**, что:

- использование рекомбинантного белка sE в качестве иммуносорбента в ИФА обеспечивает выявление антител к вирусу клещевого энцефалита в 98% случаев (52 из 53 исследованных сывороток пациентов с подтвержденным диагнозом клещевого энцефалита) без потери специфичности;

- рекомбинантный белок dIII обеспечивает выявление антител к вирусу клещевого энцефалита в 66% случаев (35 из 53 исследованных сывороток пациентов);

- рекомбинантный белок dI+II обладает ограниченной диагностической значимостью 42% (3 из 7 сывороток пациентов) при исследовании сывороток человека, содержащих антитела к ВКЭ и не выявляет антитела в сыворотках мышей и кроликов;

- антитела к домену dI+II выявляются в сыворотках обезьян и человека нерегулярно;

**получены:**

- рекомбинантные белки sE, dI+II и dIII штамма Сухар сибирского подтипа вируса клещевого энцефалита и рекомбинантный белок sE вакцинного штамма Софьин дальневосточного подтипа;

– данные, подтверждающие сохранение антигенных свойств полученных рекомбинантных белков и их способность связываться с антителами к вирусу клещевого энцефалита;

– результаты, свидетельствующие о высокой специфичности диагностической методики ИФА на основе белков sE и dIII, не выявляющей ложноположительных результатов при исследовании сывороток, содержащих антитела к вирусам Западного Нила, Лангат, денге, Повассан, желтой лихорадки, Зика, японского энцефалита, омской геморрагической лихорадки и Чикунгунья;

**использованы** современные вирусологические, молекулярно-биологические, молекулярно-генетические, иммунологические и иммунохимические методы исследования, применен адекватный дизайн исследования 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 и организация исследования, определены цели и задачи, выполнены экспериментальные исследования, осуществлены сбор и систематизация полученных данных, сформулированы основные положения и выводы диссертации.

Вклад соавторов заключался в участии в разработке праймеров и получении конструкций, кодирующих целевые гены, выполнении работ по секвенированию и обеспечении экспериментальных исследований культурами клеток, предоставлении наборов сывороток, содержащих антитела к ВКЭ и другим ортофлавивирусам. Результаты исследования представлены на российских и международных конференциях, подготовлены основные публикации по выполненной работе. Диссертация охватывает главные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, 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.

Диссертация соответствует 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. Другие показатели распределены следующим образом: цитирования – 1,22; самоцитирования – 10,78%, оригинальность – 88,00%. Долю уникального авторского текста в работе следует определять, как сумму показателей самоцитирования и оригинальности, что составляет 98,78%.

По теме диссертационного исследования опубликовано 3 научные статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных библиографических базах данных – Web of Science, Scopus, RSCI, PubMed, соответствующих требованиям категорирования журналов, в которых должны быть опубликованы научные результаты диссертационного исследования.

Комиссия диссертационного совета пришла к выводу о том, что диссертация Барышниковой Виктории Сергеевны на тему: «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка E» представляет собой научно-квалификационную работу, которая по объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 20.03.2021 N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N 101, от 18.03.2023 N 415, от 26.10.2023 N 1786, от 25.01.2024 N 62, от 16.10.2024 №1382 с изменениями от 01.01.2025 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, ученой степени кандидата наук.

**В качестве официальных оппонентов рекомендуются:**

Гущин Владимир Алексеевич – доктор биологических наук, доцент, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, руководитель отдела эпидемиологии, заведующий лабораторией механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, дом 18).

Файзулов Евгений Бахтиерович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией прикладной вирусологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (105064, г. Москва, Малый Казенный переулок, дом 5А).

**В качестве ведущей организации рекомендуется назначить:**

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14).

**Заключение:** комиссия диссертационного совета 24.1.255.01 рекомендует диссертацию Барышниковой Виктории Сергеевны на тему: «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка E», представленную 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 полиомиелита и других  
энтеровирусных инфекций с референс-центром ВОЗ  
по надзору за полиомиелитом  
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита),  
доктор биологических наук

Л.И. Козловская

**Члены комиссии:**

Ведущий научный сотрудник лаборатории  
молекулярной биологии вирусов  
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита),  
доктор биологических наук

А.С. Гамбарян

Заведующий лабораторией клещевого энцефалита  
и других вирусных энцефалитов  
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита),  
доктор медицинских наук

Н.М. Колясникова

Подписи: д.б.н. Л.И. Козловской, д.б.н. А.С. Гамбарян, д.м.н. Н.М. Колясниковой  
заверяю.

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

«16» сентября 2026 г.



А.В. Белякова