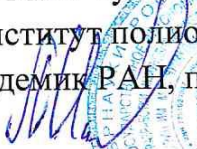


«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. генерального директора
ФГАНУ «Федеральный научный
центр исследований и разработки
иммунобиологических препаратов
им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)
академик РАН, профессор, д.м.н.


А.А. Ишмухаметов
«18» мая 2026 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация Авдошиной Дарьи Валерьевны на тему: «Экспериментальные подходы к созданию и оценке эффективности терапевтических ДНК-вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, выполнена в лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В период подготовки диссертации соискатель Авдошина Д.В. в 2019 году начала свою трудовую деятельность с должности лаборанта-исследователя лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», в 2020 году переведена на должность младшего научного сотрудника, а с 2024 года по настоящее время занимает должность научного сотрудника лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В 2013 году Авдошина Д.В. с отличием окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Балтийский государственный технический университет «ВОЕНМЕХ» им. Д.Ф. Устинова», присуждена квалификация «Инженер», по специальности «Приборы и системы лучевой энергетики».

В 2020 году с отличием окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), присвоена квалификация магистр по специальности 19.04.01 Биотехнология.

В 2023 году Авдошина Д.В. окончила аспирантуру ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по направлению подготовки 30.06.01 «Фундаментальная медицина», по специальности 03.02.02. Вирусология (справка о сдаче кандидатских экзаменов №65 от 12.12.2024 г., справка об обучении №64 от 12.12.2024 г.).

Научный руководитель – Беликова-Исагулянц Мария Георгиевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян Федерального государственного автономного научного учреждения «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 Авдошиной Дарьи Валерьевны является завершенным научным исследованием, выполненным на высоком современном научном уровне. В диссертации содержится решение научной задачи, заключающейся в разработке экспериментальных подходов к созданию терапевтических ДНК-вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака и оценке их эффективности.

Актуальность работы

Инфицирование высокоонкогенными типами вируса папилломы человека (ВПЧ) является причиной около 5% онкологических заболеваний в мире, включая рак шейки матки (РШМ) и значительную часть других видов рака аногенитальной области, плоскоклеточного рака кожи, рака головы и шеи. Одним из перспективных подходов к лечению злокачественных новообразований, ассоциированных с хронической инфекцией ВПЧ, является терапевтическая

иммунизация (в т.ч. ДНК-иммунизация), запускающая клеточно-опосредованный иммунный ответ, направленный на элиминацию злокачественных клеток. К сожалению, многочисленные разработанные терапевтические вакцины-кандидаты (в т.ч. ДНК-вакцины), показавшие многообещающие результаты в доклинических исследованиях, оказались не эффективными в клинических испытаниях. В первую очередь это обусловлено низким трансляционным потенциалом данных, получаемых в доклинических исследованиях.

Для разработки нового поколения эффективных терапевтических вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака необходимы тщательно охарактеризованные *in vivo* и *in vitro* модели ВПЧ-ассоциированного онкогенеза. При разработке вакцинных иммуногенов на основе онкогенных белков ВПЧ предпочтительно использование подхода синтетического консенсуса, учитывающего все варианты этих белков изолятов ВПЧ, циркулирующих в популяции. При этом важно определить влияние замен в консенсусных аминокислотных последовательностях вакцинных иммуногенов. Оптимизация способов доставки вакцинных ДНК-иммуногенов и подбор оптимальных схем иммунизации позволит повысить способность поствакцинального иммунного ответа ограничивать рост и метастазирование ВПЧ-ассоциированных опухолей.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Автором проведен сбор и анализ научной информации, изучена степень разработанности темы, определены цель и задачи исследования. Результаты, представленные в исследовании, получены непосредственно автором или при его участии. Автор лично проанализировал полученные результаты, произвел статистическую обработку данных, сформулировал положения и выводы диссертации. Лично или с участием автора подготовлены публикации по результатам исследования и тезисные сообщения для конференций.

Степень достоверности и апробация результатов

Материалы исследования были представлены и обсуждены в 14 докладах на международных и отечественных конференциях: международная конференция «Perspective technologies in vaccination and immunotherapy» (онлайн формат, 2020); международный симпозиум «Chronic viral infections and cancer, openings for vaccines» (онлайн формат, 2020); международный симпозиум «Chronic viral infection and cancer, openings for vaccines» (онлайн формат, 2021); международная конференция «2021 ISV Annual Congress» (онлайн формат, 2021); III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (Москва, Россия, 2021); всероссийская научно- практическая конференция с международным участием

«Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (2021 год); международная конференция «2022 ISV Annual Congress» (онлайн формат, 2022); международная конференция «Vaccines and Vaccination During and Post Covid Pandemics / VAC&VAC 2022» (онлайн формат, 2022); IX Петербургский международный онкофорум «Белые ночи» (Санкт-Петербург, Россия, 2023); 26-ая Пущинская школа-конференция молодых ученых с международным участием «БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА» (Пущино, 2023); международная конференция «2023 ISV Annual Congress» (онлайн формат, 2023); X Петербургский международный онкофорум «Белые ночи» (Санкт-Петербург, Россия, 2024).

Научная новизна

В работе впервые был проведен анализ белков Е6 и Е7 изолятов ВПЧ16, циркулирующих на территории Европы и европейской части РФ по общей изменчивости и по ее региональным различиям. Впервые было определено пороговое значение ионной силы буфера, необходимого для эффективной доставки ДНК *in vivo*. Впервые было продемонстрировано, что одиночное введение ДНК Е7 ВПЧ16 индуцирует продукцию цитокина ФНО- α , а также увеличивает количество воспалительных инфильтратов в печени, при совместном введении с ДНК Е6 приводит к снижению иммунного ответа против Е6, что исключает возможность их совместного введения. Впервые была проведена характеристика *in vitro* широко используемой в доклинических испытаниях терапевтических вакцин против ВПЧ-ассоциированных злокачественных новообразований модели ТС-1/luc2 и показаны возможные механизмы, за счет которых данная модель не позволяет в полной мере оценить терапевтический потенциал вакцинных кандидатов. Были впервые получены производные высоко туморогенной, спонтанно метастазирующей клеточной линии 4T1luc2, экспрессирующие Е6 и Е7 ВПЧ16, показана возможность их использования для оценки терапевтического потенциала модельных ДНК-вакцин на основе Е6 и Е7 ВПЧ16.

Практическая значимость

В ходе проведения диссертационной работы были получены данные по вариабельности белков Е6 и Е7 циркулирующих Европе европейской части РФ изолятов ВПЧ16. Важным результатом является выявление большого количества аминокислотных замен в белке Е6 в областях связывания Е6/p53, но не затрагивающие области структурно-функциональных доменов белка, определяющих его функции. Нарушение участков связывания Е6/p53 напрямую влияет на протеолиз p53 и, как следствие, онкогенный потенциал белка Е6. Эти данные могут быть использованы для конструирования новых актуализированных

терапевтических вакцин против неоплазий и опухолей, ассоциированных с ВПЧ16 инфекцией для европейской популяции.

Были определены основные физические параметры методов электропорации и сонопорации, влияющие на их эффективность при доставке плазмидной ДНК *in vivo*. Полученные результаты могут быть использованы при разработке протоколов доставки ДНК мышам указанными методами с применением другого, отличного от используемого в работе, оборудования. Значение определенного в работе порогового значения ионной силы буфера, необходимого для эффективной доставки ДНК *in vivo*, может быть учтено при разработке протоколов непринудительной и принудительной доставки ДНК *in vivo*.

В работе показано, что использование вакцинного иммуногена на основе E7 ВПЧ16 не целесообразно и может приводить к негативным последствиям как при одиночном использовании, так и в составе с вакцинным иммуногеном на основе E6 ВПЧ16.

В работе продемонстрировано, что эффективность отбора кандидатных вакцин с высокой иммуногенностью зависит от используемых доклинических моделей. Показаны ограничения широко используемой мышинной модели TC-1/luc2. В работе демонстрируется возможность применения моделей на основе сингенной клеточной линии мышей, линии 4T1luc2, экспрессирующей E6/E7 ВПЧ16, как аналога «естественных» агрессивных опухолей, ассоциированных с ВПЧ16, для строгой оценки эффективности кандидатных вакцин против ВПЧ.

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 направлениям исследования: 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 7 - изучение противовирусного иммунитета, иммунохимические исследования вирусных антигенов, изучение гуморального, клеточного иммунитета и иммунопатологических реакций; пункту 10 – разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии; пункту 11 - противовирусные препараты. Интерфероны и индукторы интерферона: изучение механизма действия, получение и применение. Вирусные вакцины, в том числе

живые (аттенуированные), инактивированные, субъединичные, рекомбинантные (реплицирующиеся и нереплицирующиеся), векторные и вакцины на основе вирусоподобных частиц.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Научная деятельность Авдошиной Д.В. отражена в 17 научных работах, по теме диссертационного исследования опубликовано 5 печатных работ, из них 4 – научные статьи и 1 – научный обзор, опубликованные в журналах, индексируемых в международных библиографических базах данных: Web of Science, Scopus и RSCI. Все публикации соответствуют требованиям категорирования журналов, в которых должны быть опубликованы результаты диссертационного исследования.

Научные результаты диссертации отражены в следующих научных статьях:

1. Jansons J., **Avdoshina D.**, Dudorova A., Rubio E.R., Sokolovska L., Perminov D., Lindenberg I., Nicolai H., Gebrila S., Chowdhury S., Skrastina D., Nazarovs J., Palefsky J.M., Isaguliant M./ New mouse model based on adenocarcinoma 4T1 cells expressing HPV16 E6 and E7 applied to assess the efficacy of therapeutic and prophylactic E6/E7-based HPV16 vaccines // Infectious Agents and Cancer. – 2025. – V. 20. – № 1. – P. 51. DOI: 10.1186/s13027-025-00682-y (Web of Science, Scopus, Q2). 2,063/0,147 п.л.

2. Jansons J., Skrastina D., Kurlanda A., Petkov S., **Avdoshina D.**, Kuzmenko Y., Krotova O., Trofimova O., Gordeychuk I., Sominskaya I., Isaguliant M./ Reciprocal Inhibition of Immunogenic Performance in Mice of Two Potent DNA Immunogens Targeting HCV-Related Liver Cancer // Microorganisms. – 2021. – V. 9. – № 5. – P. 1073. DOI: 10.3390/microorganisms9051073 (Web of Science, Scopus, Q2). 1,875/0,170 п.л.

3. **Avdoshina D.**, Valuev-Elliston V., Belikova M., Zhitkevich A., Latanova A., Frolova G., Latyshev O., Gordeychuk I., Bayurova E./ Efficacy of Plasmid DNA Delivery into Mice by Intradermal Injections Alone and Facilitated by Sonoporation or Electroporation // Vaccines. – 2026. – V. 14. – № 1. – P. 82. DOI: 10.3390/vaccines14010082 (Web of Science, Scopus, Q1). 1,750/0,194 п.л.

4. Зеленова Е.Е., Карлсен А.А., **Авдошина Д.В.**, Кюрегян К.К., Беликова М.Г., Троценко И.Д. / Паттерны аминокислотных замен в белках Е6 и Е7 вируса папилломы человека 16 типа: филогеография и эволюция // Молекулярная биология. – 2024. – Т. 58. – № 4. – С. 549-574. DOI: 10.31857/S0026898424040036 (Scopus, RSCI, K2). 1,380/0,230 п.л.

5. Авдошина Д.В., Кондрашова А.С., Беликова М.Г., Баюрова Е.О./ Мышинные модели хронических вирусных инфекций и ассоциированных с ними опухолей // Молекулярная биология. – 2022. – Т. 56. – № 5. – С. 710-731. DOI: 10.31857/S0026898422050020 (Scopus, RSCI, K2). 1,380/0,345 п.л.

Диссертация проверена в системе «Антиплагиат.Эксперт». Доля уникального авторского текста диссертационной работы составляет 97,49%. Автором рукописи диссертации правомерно использованы ранее опубликованные тексты с указанием необходимых ссылок на источники информации и соблюдением авторских прав правообладателей.

Общее заключение

Диссертационное исследование Авдошиной Дарьи Валерьевны на тему: «Экспериментальные подходы к созданию и оценке эффективности терапевтических ДНК-вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака» является законченной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа посвящена разработке компонентов и методологии доклинических испытаний терапевтических ДНК-вакцин против злокачественных заболеваний, ассоциированных с хронической инфекцией вирусом папилломы человека типа 16, основанных на белках вируса Е6 и Е7. В диссертационной работе был проведен анализ изменчивости белков Е6 и Е7 изолятов ВПЧ16 циркулирующих на территории РФ и стран Европы. С учетом актуальных для исследуемой популяции АК-замен в составе белков Е6 и Е7 ВПЧ16 были сконструированы ДНК-иммуногены, кодирующие гены Е6 и Е7 ВПЧ16. В модельных экспериментах был выбран оптимальный способ доставки ДНК *in vivo*, обеспечивающий максимальный уровень продукции целевого белка, а также выбрана оптимальная схема иммунизации двумя ДНК-иммуногенами, обладающими различными иммуногенными свойствами и отличающимися уровнями экспрессии в клетке. Был оценен Т-клеточный ответ разработанных ДНК-иммуногенов на основе Е6 и Е7 ВПЧ16. Было показано, что иммунизация Е6 индуцирует специфический Т-клеточный ответ по типу Th1, в то время как иммунизация Е7 специфического ответа не вызывает. Было продемонстрировано, что одиночное введение ДНК Е7 ВПЧ16 индуцирует продукцию цитокина ФНО- α , а также увеличивает количество воспалительных инфильтратов в печени, при совместном введении с ДНК Е6 приводит к снижению иммунного ответа против Е6, что исключает возможность их совместного введения. Результаты оценки иммуногенности были подтверждены в оценке способности разработанных ДНК-вакцинных конструкторов ограничивать рост и миграционную активность опухолевых клеток, экспрессирующих Е6 и Е7 в терапевтических условиях на широкоиспользуемой мышинной модели ТС-1/luc2. Результаты показали отсутствие эффективности ДНК-иммунизации Е7, а также что

модель ТС-1/luc2 не позволяет в полной мере оценить эффективность терапевтической ДНК-иммунизации ввиду отсутствия метастатического потенциала клеток ТС-1/luc2. Также впервые была проведена характеристика данной модели *in vitro*. Для создания модели, позволяющей оценить эффект иммунизации на рост опухоли и ее метастатическую активность, в рамках диссертационной работы была создана новая модель опухолевых клеток, экспрессирующих Е6 и Е7 ВПЧ16. Ряд проведенных автором *in vitro* и *in vivo* тестов показал преимущество новой модели по сравнению с моделью ТС-1/luc2, а также подтвердил высокое сходство новой модели с естественно-инфицированными опухолями человека, экспрессирующими Е6 и Е7 ВПЧ16. Большим преимуществом новой модели была ее более строгая оценка терапевтического потенциала экспериментальных вакцин на основе Е6/Е7 против злокачественных заболеваний, ассоциированных с ВПЧ16. Полученные автором результаты согласуются с результатами ряда клинических испытаний, показавших неэффективность иммуногенов на основе Е6 и Е7 ВПЧ16 при положительных результатах доклинических испытаний.

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 Авдошиной Дарьи Валерьевны на тему: «Экспериментальные подходы к созданию и оценке эффективности терапевтических ДНК-вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака», 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. (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 и может быть рекомендована к защите.

Заключение организации, где выполнялось диссертационное исследование Авдошиной Дарьи Валерьевны на тему: «Экспериментальные подходы к созданию и оценке эффективности терапевтических ДНК-вакцин против ВПЧ-ассоциированного рака», 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 18 членов комиссии (имеющих ученую степень доктора наук – 11 членов, кандидата наук – 7 членов) из 24 человек списочного состава научной экспертной комиссии.

Результаты голосования:

«За» – 18 членов комиссии;

«ПРОТИВ» – нет;

«Воздержалось» — нет;

Протокол заседания № 3 от 28 апреля 2026 г.

Председатель научной экспертной комиссии
заведующий лабораторией биологии арбовирусов,
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
профессор, доктор биологических наук

Kap

Карганова Галина Григорьевна

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



Белякова Алла Владимировна

Подписи: проф., д.б.н. Каргановой Г.Г., к.б.н. Беляковой А.В. заверяю.
начальник отдела кадров
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)

«*ЛС*» *ул он* 2026 г.



А.И. Симакова