

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Барышниковой Виктории Сергеевны «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка E», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Диссертационная работа Барышниковой Виктории Сергеевны посвящена препаративному получению рекомбинантных белков dI+II, dIII, sE вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) штамма Сухар и sE штамма Софьин в бактериальной системе экспрессии *E. coli* и оценке их диагностического потенциала в ИФА для дифференциальной диагностики ВКЭ. Изучена чувствительность и специфичность ИФА, проведено сравнение с существующими коммерческими ИФА тест-системами, основанными на цельновирионном антигене ВКЭ. Тема диссертационной работы актуальна в связи с тем, что ареал ВКЭ часто пересекается с другими ортофлавиовирусными инфекциями, такими как вирусы Западного Нила, японского энцефалита, Омской геморрагической лихорадки. Кроме того, развитие туризма способствует увеличению количества завозных случаев ортофлавиовирусных инфекций: денге, Зика и других, нехарактерных для РФ ортофлавиовирусов. Перекрёстная реактивность постинфекционных антител к другим ортофлавиовирусам часто приводит к ложноположительным результатам в коммерческих ИФА, усложняя дифференциальную серодиагностику КЭ, а также может приводить к постановке ложноположительного диагноза КЭ у пациентов, ранее перенесших инаппарантную форму ортофлавиовирусной инфекции или вакцинированных против других ортофлавиовирусов (например, к вирусу желтой лихорадки). В связи с вышесказанным, поиск альтернативы нативному антигену для изготовления ИФА тест-систем на ВКЭ – это очень актуальная задача. Тем более, что рекомбинантные антигены, получаемые в бактериальной системе экспрессии более стандартизованы, имеют высокую степень очистки и относительно низкую себестоимость. А в связи с тем, что ВКЭ относится ко II-й группе патогенности, разработка рекомбинантного антигена дает возможность производить его в организациях, имеющих лицензию на работу с патогенами III-IV групп, что также снижает стоимость производства.

Для решения поставленных задач автор использовал комплекс вирусологических, молекулярно-биологических, генно-инженерных и иммунохимических методов, в том числе применялись современные методы компьютерного моделирования вторичных структур рекомбинантных антигенов. Достоверность полученных данных подтверждается применением ряда статистических методов обработки результатов.

В ходе настоящего исследования были получены рекомбинантные белки (sE, dI+II, dIII) штамма Сухар сибирского подтипа ВКЭ. На основе компьютерного моделирования определены вторичные структуры рекомбинантных антигенов ВКЭ. Подобраны оптимальные условия для экспрессии соответствующих генов, сольюбилизации, выделения и рефолдинга белков. Разработан метод ИФА для выявления антител к ВКЭ на основе полученных рекомбинантных белков. Показано, что ИФА на основе рекомбинантных белков sE и dIII ВКЭ штамма Сухар обладает высокой чувствительностью: выявляет антитела в сыворотках лабораторных животных к 17 штаммам, относящимся к 5 подтипам вируса клещевого энцефалита, изолированным в разное время из разных источников и регионов. При анализе человеческих сывороток ИФА на основе белка sE, метод обладает более высокой чувствительностью в сравнении с белками dI+II и dIII. Также автором доказана способность разработанным ИФА с использованием рекомбинантных белков sE и dIII дифференцировать антитела к ВКЭ при анализе иммунных сывороток животных, содержащих

антитела к ВКЭ, вирусу Западного Нила, вирусу Лангат, вирусу Повассан, вирусу японского энцефалита, а также в сыворотках крови пациентов с диагнозами клещевой энцефалит, японский энцефалит, лихорадка Западного Нила, лихорадка Зика, лихорадка денге и реципиентов, вакцинированных против вируса клещевого энцефалита и вируса желтой лихорадки.

Теоретическая и практическая значимость настоящей работы заключается в получении рекомбинантных белков ВКЭ, на основе которых можно в перспективе разработать коммерческие тест-системы для дифференциальной диагностики ВКЭ от других ортофлавивирусных инфекций, что имеет большое значение для эпидемиологических служб и рутинной лабораторной диагностики, так как существующие ИФА тест-системы не имеют сопоставимой специфичности. Это позволит сократить расходы лабораторий за счет сокращения времени на постановку анализа, т.к. результат не надо будет уточнять или перепроверять в других тест-системах.

По тексту автореферата имеется ряд несущественных замечаний, не влияющих на качество исследования; но требующих внимания со стороны соискателя:

1. В актуальности темы исследования автор несколько раз упоминает «свежую» инфекцию, что больше похоже на сленг. Правильно было бы говорить о первичной инфекции.

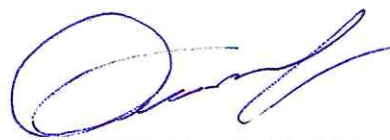
2. В подписи к рисунку 7 у белка dI+dII указана неверная молекулярная масса – 11 кДа. Правильно 33 кДа.

3. В таблице 7, номер набора 1, ЛЗН, в столбце ИФА (dIII) указано значение 0/1, при этом исследовали 6 сывороток.

Для законченности исследования, на мой взгляд, не хватило оценки корреляции между титром антител в ИФА с использованием антигенов sE и dIII и титром в реакции нейтрализации. Если такая корреляция была бы показана, то тест-системы на рекомбинантных антигенах были бы особенно актуальны для оценки поствакцинального иммунитета к ВКЭ.

Анализ автореферата позволяет сделать следующее Заключение. По актуальности, научной новизне полученных результатов, и практической значимости диссертационная работа Барышниковой Виктории Сергеевны на тему: «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка E», представленная на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10, выполненная под руководством кандидата биологических наук, Тучинской Ксении Константиновны, полностью соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г., № 842 (с изменениями от 16.10.2024 г., №1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Барышникова Виктория Сергеевна, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.10 Вирусология.

Оксанич Алексей Сергеевич



03.09.2026 г.

Кандидат биологических наук

И.о. заведующего лабораторией молекулярной биотехнологии, ведущий научный сотрудник
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, отдел вирусологии им. О.Г. Анджпаридзе

г. Москва, ул. 1-я Дубровская д. 15

тел.: +7 (916) 783-71-89, e-mail: oksanich@yahoo.com

Подпись к.б.н. Оксанича А.С. завершено
Членом секретариата НИИВС им. Мечникова Васильев А.В.

