

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.043.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГРИППА  
ИМЕНИ А.А. СМОРОДИНЦЕВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 10 декабря 2019 года № 8

О присуждении Тимошичевой Татьяне Александровне ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка моноклональных антител к гексону аденовирусов человека» по специальности 03.02.02 – вирусология принята к защите 01 октября 2019 года, протокол № 5, диссертационным советом Д 001.043.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.15/17).

Соискатель Тимошичева Татьяна Александровна, 1984 года рождения, в 2007 году с отличием окончила Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), получив степень магистра техники и технологии по направлению «химическая технология и биотехнология».

Диссертация выполнена в отделе биотехнологии федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

**Амосова Ирина Викторовна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

**Лаврентьева Ирина Николаевна**, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,

**Малышев Владимир Васильевич**, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - **Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»** в своем положительном отзыве, подписанном Лобзиным Юрием Владимировичем - заслуженным деятелем науки Российской Федерации, академиком РАН, профессором, директором Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», указал, что диссертационная работа Тимошичевой Татьяны Александровны является завершенной научно-квалификационной работой и посвящена разработке моноклональных антител к гексону аденовирусов человека. Работа представляет собой цельное многостороннее исследование, написана хорошим литературным языком и правильно структурирована. Для обзора литературы использованы современные данные, большинство источников относится к последним годам. Результаты исследований представлены четко и логично. Работа в достаточной степени иллюстрирована рисунками и таблицами. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Материалы диссертационного исследования опубликованы в журналах и представлены на международных научных конференциях. Опубликованные данные полностью соответствуют представленным в диссертационной работе результатам. Очевиден личный вклад автора, как в экспериментальной части исследования, так и на аналитическом этапе.

Диссертация Тимошичевой Татьяны Александровны по актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и

практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, все по теме диссертации, из них 3 опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

Основные научные результаты диссертационного исследования опубликованы в рецензируемых научных изданиях.

В статье «Use of hexon as an antigen for the production of monoclonal antibodies capable of detecting multiple adenovirus types» (4) и статье «Гексон как основной белок для получения моноклональных антител, выявляющих аденовирусы различных типов» (5) изложены результаты первого и второго разделов собственных исследований, описаны этапы получения очищенного гексона аденовируса, создания высокоспецифичных моноклональных антител, также содержатся результаты исследования свойств разработанных моноклональных антител. В статьях «Генетическое разнообразие аденовирусов, циркулирующих среди военнослужащих северо-западного региона) (2) и «Молекулярно-генетический анализ современных штаммов аденовирусов» (3) изложены материалы, отраженные в третьем разделе собственных исследований, содержащие результаты изучения генетического разнообразия аденовирусов, циркулирующих на территории Северо-Западного региона России. Результаты изучения диагностического потенциала разработанных моноклональных антител в отношении современных штаммов аденовирусов, описанных в четвертом разделе собственных исследований, представлены в статье «Использование микрокультурального иммуноферментного анализа и модифицированного метода иммунофлуоресценции для диагностики аденовирусной инфекции» (1).

Наиболее значимые работы:

1. Амосова И. В., Тимошичева Т. А., Сверлова М. В., Бузицкая Ж. В., Егорова А. А., Львов Н. И. Использование микрокультурального иммуноферментного анализа и модифицированного метода иммунофлуоресценции для диагностики аденовирусной инфекции. **Клиническая лабораторная диагностика**. 2017; 62(4). 230-5

2. Амосова И.В., Тимошичева Т.А., Егорова А.А., Мусаева Т.Д., Писарева М.М., Едер В.А., Львов Н. И. Генетическое разнообразие аденовирусов, циркулирующих среди военнослужащих северо-западного региона. **Вопросы вирусологии**. 2017; 6(62): 283-7

3. Амосова И.В., Тимошичева Т.А., Егорова А.А., Мусаева Т.Д., Писарева М.М., Едер В.А., Львов Н. И. Молекулярно-генетический анализ современных штаммов аденовирусов. **Современная медицина**. 2018; 3(11): 74-7

4. Timoshicheva T.A., Zabrodskaya Y.A., Ramsay E., Amosova I.V. Use of hexon as an antigen for the production of monoclonal antibodies capable of detecting multiple adenovirus types. **Biologicals**. 2019; 58: 44-9

5. Тимошичева Т.А., Забродская Я.А., Амосова И.В. Гексон как основной белок для получения моноклональных антител, выявляющих аденовирусы различных типов. **Инфекция и иммунитет**. 2019; 9(1): 47–56

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

- 1) доктора медицинских наук, заведующей лабораторией этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России Бурцевой Елены Михайловны;
- 2) доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических болезней) ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ Львова Николая Ивановича;
- 3) доктора биологических наук, профессора, ведущего научного сотрудника 5 НИО ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России Пащенко Юрия Ивановича;
- 4) доктора медицинских наук, ведущего научного сотрудника ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», профессора кафедры организации и технологии производства иммунобиологических препаратов Института фармации

и трансляционной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ Ивановой Ольге Евгеньевне;

5) доктора биологических наук, профессора, заместителя руководителя производственного направления ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» Игнатъева Георгия Михайловича.

Все отзывы положительные. В отзыве доктора биологических наук, профессора, ведущего научного сотрудника 5 НИО ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России Пащенко Юрия Ивановича имеется одно замечание, которое не оказывает влияния на общую положительную оценку представленной работы: «в качестве недостатков следует отметить часто встречающееся по тексту словосочетание «разработаны(нные) МКА», правильное – «получены(нные) МКА», а также дважды обозначенный рис. 9 (с.18 и 20)».

В отзывах подчеркивается актуальность темы проведенного исследования, отмечается значимость полученных теоретических и практических результатов.

Выбор официальных оппонентов обосновывается их компетентностью в данной области науки, достижениями, большим опытом и наличием публикаций в сфере диссертационного исследования, их согласием на оппонирование и рецензирование настоящей работы и способностью определить и практическую ценность выполненной научно-исследовательской работы и проведен в соответствии с требованиями пункта 22 «Положения порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24.09.2013 г.

Выбор ведущей организации обусловлен тем, что ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» является одним из передовых учреждений, в котором работают признанные специалисты в сфере медицины, молекулярной биологии и вирусологии.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

- **получены** и полностью охарактеризованы 9 стабильных гибридом-продуцентов моноклональных антител к гексону аденовируса 6 типа;

- **подтверждена** методом масс-спектрометрического анализа аминокислотная последовательность гексона, использованного в качестве иммуногена для получения МКА;

- **впервые** для определения типов аденовирусов, циркулирующих на территории России, **применено** секвенирование методом Сенжера гена, кодирующего фибриллу;

- **получены** данные о циркуляции аденовирусов 4 и 7 типов среди населения Северо-Западного региона России за период 2014-2017 гг.;

- **показана** потенциальная возможность использования разработанных МКА в различных вирусологических и иммунологических реакциях, а также при конструировании белковых биочипов, для выявления аденовирусов, принадлежащих к различным группам, в т.ч. современных штаммов аденовирусов;

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

- разработанные моноклональные антитела **являются** перспективными инструментами для создания тест-систем нового поколения для диагностики аденовирусной инфекции в практическом здравоохранении, а также при изучении этиологической структуры заболеваемости населения.

- **определен** спектр типов аденовирусов, циркулировавших среди населения Северо-Западного региона РФ за период 2014-2017 гг. Полученные данные могут быть использованы при изучении этиологической структуры заболеваемости населения, в том числе в рамках осуществления надзора за гриппом и ОРВИ на территории России.

- **показана возможность** использования метода микрокультурального ИФА с использованием разработанных моноклональных антител для выделения аденовирусов в культуре клеток. Метод позволяет сократить сроки выделения этиологического агента в клеточной культуре и выявлять аденовирусы, не вызывающие характерного ЦПД в клетках.

- полученные данные могут быть **использованы** в учебном процессе в курсе тематического усовершенствования, профессиональной переподготовки и сертификационном курсе по специальности «Вирусология».

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

- **включение** разработанных МКА в состав многопараметрического диагностического комплекса ТОРИ-ТЕСТ для детекции и прогноза тяжести течения острых респираторных инфекций позволит проводить одномоментный высокочувствительный мультиплексный анализ респираторных вирусных инфекций и прогнозировать развитие возможных осложнений.

- **внедрение** разработанных МКА 6В12 в производство отечественного препарата «Иммуноглобулин диагностический флуоресцирующий аденовирусный антигексоновый» взамен используемых в настоящее время гипериммунных поликлональных сывороток позволит облегчить работу исследователей при интерпретации результатов дифференциальной диагностики аденовирусной инфекции от других ОРВИ;

- **подготовлены** и переданы в коллекцию вирусов гриппа и ОРВИ при ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России два штамма аденовирусов 4 типа. Депонированные штаммы аденовирусов могут быть использованы для скрининга и тестирования потенциальных противовирусных препаратов.

#### **Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:**

- **достоверность результатов подтверждается** статистическим анализом большого массива данных, полученных в ходе экспериментов, и их научно обоснованной интерпретацией,

- для проведения экспериментальных работ **задействован** широкий комплекс современных методов, результаты получены с использованием сертифицированного оборудования, проходящего плановый и контрольно-технический осмотры;

- в работе **использованы** современные экспериментальные молекулярно-биологические, вирусологические и статистические методы.

**Личный вклад соискателя** состоит в самостоятельном планировании и выполнении всех основных лабораторных исследований, проведении анализа и статистической обработки полученных результатов. Автором лично получены очищенный гексон аденовируса, использованный в качестве иммуногена для разработки МКА, очищенные аденовирус и респираторно-синцитиальный вирус, использованные для изучения свойств разработанных МКА; выполнена работа по

созданию МКА, включая работу с лабораторными животными; проведено выделение и характеристика циркулирующих штаммов аденовирусов из клинических материалов от больных и исследованы диагностические свойства разработанных МКА в иммунологических реакциях с выделенными вирусами. Непосредственно автором выполнена систематизация полученных данных, подготовка материалов для публикации и их представление на научных конференциях международного и российского уровня.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация Тимошичевой Т.А. «Разработка моноклональных антител к гексону аденовирусов человека» представляет собой научно-квалификационную работу и соответствует требованиям, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук п. 9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 в редакции Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, и **принял решение ПРИСУДИТЬ** Тимошичевой Татьяне Александровне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

При проведении тайного голосования, диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности 03.02.02 – вирусология, участвовавших в заседании, проголосовали:

За присуждение ученой степени – 15.

Против – нет.

Недействительных бюллетеней – нет.

Председатель  
диссертационного совета Д 001.043.01,  
доктор биологических наук

Жилинская И.Н.

Ученый секретарь Д 001.043.01,  
кандидат биологических наук

Амосова И.В.

11 декабря 2019 г.

