

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 21.1.017.01 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 15 ноября 2022 года № 10 о присуждении Меженской Дарье Андреевне ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Создание прототипа универсальной живой гриппозной вакцины на основе внеклеточного домена М2 белка вируса гриппа А» по специальности 1.5.10 – вирусология принята к защите 02 авг 2022 года, протокол № 6, диссертационным советом Д 21.1.017.01 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 Меженская Дарья Андреевна, 1994 года рождения, в 2018 году окончила магистратуру Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого по специальности «Физика». В 2022 году окончила аспирантуру на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по специальности 1.5.10 – «вирусология».

Диссертация выполнена в отделе вирусологии им. А.А. Смородинцева Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».

Научный руководитель:

Исакова-Сивак Ирина Николаевна, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заведующая лабораторией иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «ИЭМ».

Официальные оппоненты:

Ленёва Ирина Анатольевна – Доктор биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАН

Зарубаев Владимир Викторович – Доктор биологических наук, ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека –

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – **Федеральное Государственное бюджетное научное учреждение “Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи”** Министерства здравоохранения РФ, в своем положительном отзыве, подписанном Еленой Ивановной Бурцевой – доктором медицинских наук, руководителем лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи», указала, что диссертационная работа Меженской Дарьи Андреевны на тему «Создание прототипа универсальной живой гриппозной вакцины на основе внеклеточного домена М2 белка вируса гриппа А», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач по разработке универсальной живой гриппозной вакцины на основе внеклеточного домена М2 белка вируса гриппа А и исследованию безвредности, иммуногенности и кросс-протективной активности перспективных кандидатных штаммов. По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ по теме диссертации, из которых 6 научных статей в журналах, входящих в международные системы цитирования и реферативные базы данных Web of Science и/или Scopus, и 12 тезисов докладов на отечественных и международных конференциях.

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 обзорных статьях «M2e-based universal influenza vaccines: a historical overview and new approaches to development» (1) и «Influenza vaccine: progress in a vaccine that elicits a broad immune response» (2) обобщены литературные данные о современных направлениях исследований в области создания универсальных гриппозных вакцин, в том числе с использованием в качестве целевого антигена M2e белка вируса гриппа А, а также проведен эволюционный анализ M2 белков всех вирусов гриппа А людей, птиц и свиней, в результате которого была предложена оптимальная комбинация из 4-х фрагментов M2e для разработки M2e-направленных вакцин с максимальной шириной охвата циркулирующих вирусов. В статьях «Broad cross protection by recombinant live attenuated influenza H3N2 seasonal virus expressing conserved M2 extracellular domain in a chimeric hemagglutinin» (3), «A strategy to elicit M2e-specific antibodies using a recombinant H7N9 live attenuated influenza vaccine expressing multiple M2e tandem repeats» (4) и «Generation and characterization of universal live-attenuated influenza vaccine candidates containing multiple M2e epitopes» (5) изложены материалы третьей главы диссертации, описывающие результаты конструирования рекомбинантных прототипов универсальной живой гриппозной вакцины, изучения их свойств в системе *in vitro*, а также оценки безопасности, иммуногенности и протективной активности в экспериментах на мышах. В статье «Universal live-attenuated influenza vaccine candidates expressing multiple M2e epitopes protect ferrets against a high-dose heterologous virus challenge» опубликованы материалы изучения безвредности, иммуногенности и кросс-протективной активности отобранных кандидатов в универсальную ЖГВ в экспериментах на хорьках.

Наиболее значимые работы:

1. **Mezhenskaya D.**, Isakova-Sivak I., Rudenko L. M2e-based universal influenza vaccines: a historical overview and new approaches to development // *Journal of Biomedical Science* – 2019. – Т. 26, № 1. – С. 76.

2. Isakova-Sivak I., Stepanova E., **Mezhenskaya D.**, Matyushenko V., Prokopenko P., Sychev I., Wong P. F., Rudenko L. Influenza vaccine: progress in a vaccine that elicits a broad immune response // *Expert Review of Vaccines*. – 2021. – Т. 20, № 9. – С. 1097-1112.

3. Park B. R., Kim K. H., Kotomina T., Kim M. C., Kwon Y. M., Jeeva S., Jung Y. J., Bhatnagar N., Isakova-Sivak I., **Mezhenskaya D.**, Rudenko L., Wang B. Z., Kang S. M. Broad cross protection by recombinant live attenuated influenza H3N2 seasonal virus expressing conserved M2 extracellular domain in a chimeric hemagglutinin // *Scientific Reports* – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 4151.

4. **Mezhenskaya D.**, Isakova-Sivak I., Kotomina T., Matyushenko V., Kim M. C., Bhatnagar N., Kim K. H., Kang S. M., Rudenko L. A Strategy to Elicit M2e-Specific Antibodies Using a Recombinant H7N9 Live Attenuated Influenza Vaccine Expressing Multiple M2e Tandem Repeats // *Biomedicines*. – 2021. – Т. 9, № 2. – С. 133.

5. Kotomina T., Isakova-Sivak I., Kim K. H., Park B. R., Jung Y. J., Lee Y., **Mezhenskaya D.**, Matyushenko V., Kang S. M., Rudenko L. Generation and Characterization of Universal Live-Attenuated Influenza Vaccine Candidates Containing Multiple M2e Epitopes // *Vaccines (Basel)*. – 2020. – Т. 8, № 4. – С. 648.

6. **Mezhenskaya D.**, Isakova-Sivak I., Matyushenko V., Donina S., Rekstin A., Sivak K., Yakovlev K., Katelnikova A., Kryshen K., Makarov V., Rudenko L. Universal Live-Attenuated Influenza Vaccine Candidates Expressing Multiple M2e Epitopes Protect Ferrets against a High-Dose Heterologous Virus Challenge // *Viruses*. – 2021. – Т. 13, № 7. – С. 1280.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1) кандидата медицинских наук, заместителя генерального директора по научной и производственной работе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора Нечаевой Елены Августовны;

2) доктора медицинских наук, заслуженного работника высшей школы Российской Федерации, профессора кафедры микробиологии, доцента ФГБВОУ

ВО Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова Малышева Владимира Васильевича;

3) доктора медицинских наук, старшего научного сотрудника Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «СЗФИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России Головкина Алексея Сергеевича;

4) кандидата физико-математических наук, доцента Высшей школы биомедицинских систем и технологий ФГАОУ ВО СПбПУ Забродской Яны Александровны.

В отзывах подчеркивается актуальность темы проведенного исследования, показана 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 теоретическую и практическую ценность выполненной научно-исследовательской работы и произведен в соответствии с требованиями пункта 22 «Положения порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24.09.2013 г.

Выбор ведущей организации обусловлен тем, что Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» является одним из передовых учреждений, в котором работают признанные специалисты в сфере экспериментальной медицины, молекулярной биологии и вирусологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

сконструированы рекомбинантные штаммы живой гриппозной вакцины (ЖГВ) подтипов H1N1, H3N2 и H7N9 на основе отечественного донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57, кодирующие в своем геноме 4 копии M2e белка;

продемонстрировано, что дополнительные эпитопы M2e не оказывают негативного влияния на репликативные свойства вакцинных штаммов;

показано, что интраназальная иммунизация животных рекомбинантными штаммами ЖГВ+4M2e приводит к выработке статистически достоверно более

высоких уровней анти-M2e антител по сравнению с классическими штаммами ЖГВ. При этом встраивание M2e эпитопов в молекулу гемагглютинина стимулирует выработку более высоких уровней M2e-специфических антител, по сравнению с инкорпорированием генов M2e эпитопов в рамку считывания NS1 белка.

продемонстрировано усиление кросс-протективного потенциала живой гриппозной вакцины при внесении в геном вакцинного штамма дополнительных генов, кодирующих эпитопы M2e;

установлено, что одним из механизмов, обеспечивающим перекрестную защиту иммунизированных животных от заражения гетерологичным вирусом гриппа, является секреция M2e-специфических антител В-клетками, расположенными в медиастинальных лимфатических узлах животных, на ранних стадиях после инфицирования;

отобран кандидат ЖГВ-НА+4M2e для завершения доклинических испытаний на безопасность препарата. На основании полученных данных будет подготовлено досье на получение разрешения для проведения первой фазы клинических испытаний на добровольцах.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

смоделированы последовательности вставок из целевых M2e-эпитопов для конструирования живой гриппозной вакцины с максимально широким покрытием вирусов гриппа А, циркулирующих среди людей, свиней и птиц. Данные последовательности также могут быть использованы для дизайна универсальной гриппозной вакцины на основе других платформ, включая векторные вакцины, рекомбинантные белковые технологии, а также вакцины на основе нуклеиновых кислот.

показано, что M2e-специфические антитела обеспечивают защиту организма за счет своей функциональной активности, а именно – комплемент-зависимой цитотоксичности,

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

обоснована возможность целенаправленного усиления спектра защитного действия живой гриппозной вакцины за счет встраивания дополнительных генов M2e-эпитопов в геном вакцинного штамма. В перспективе аналогичная стратегия

может быть адаптирована для создания универсальной гриппозной вакцины с использованием других консервативных антигенов вируса гриппа А и/или В.

отобран кандидат ЖГВ-НА+4М2е для завершения полного цикла доклинических исследований и проведения первой фазы клинических испытаний на добровольцах. Успешная апробация данного прототипа универсальной гриппозной вакцины в клинических исследованиях позволит защитить население от любого вновь возникающего вируса гриппа А, в том числе пандемического варианта, и снизить заболеваемость и смертность от гриппа и его осложнений.

отработана методология оперативной подготовки рекомбинантных вакцинных штаммов для их включения в состав сезонных и пандемических живых гриппозных вакцин.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что экспериментальная работа была проведена с использованием сертифицированного оборудования, проходящего плановый и контрольно-технический осмотры;

принцип исследования базируется на обширном объеме литературных данных об использовании эктодомена М2 белка вируса гриппа А для конструирования гриппозных вакцин широкого спектра действия;

обоснованность выводов подтверждается значительным объемом проведенных экспериментальных исследований и воспроизводимостью результатов оценки иммуногенных и кросс-протективных свойств сконструированных вакцинных прототипов с использованием различных моделей животных;

использованы современные вирусологические, молекулярно-генетические, иммунологические, биоинформатические и статистические методы исследований;

установлено отсутствие совпадений авторских результатов с данными других исследователей, опубликованными в независимых литературных источниках.

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельном проведении важнейших этапов исследования, включая анализ литературных данных по теме исследования, поиск консервативных участков М2е биоинформатическими методами, конструирование рекомбинантных вакцинных штаммов методами обратной генетики, изучение свойств вакцинных кандидатов в системе *in vitro*,

изучение иммуногенных и кросс-протективных свойств вакцинных прототипов на модели гриппозной инфекции у мышей и хорьков, а также статистическую обработку данных, интерпретацию и осмысление полученных результатов.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация Меженской Д.А. «Создание прототипа универсальной живой гриппозной вакцины на основе внеклеточного домена М2 белка вируса гриппа А» 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 действующей редакции), и **принял решение ПРИСУДИТЬ** Меженской Дарье Андреевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

При проведении тайного голосования, диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности 1.5.10 – вирусология, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

За присуждение ученой степени – 15.

Против – 0.

Недействительных бюллетеней – 0.

Председатель
диссертационного совета Д 21.1.01.7.01,
доктор биологических наук

Жилинская И.Н.

Ученый секретарь Д 21.1.01.7.01
кандидат биологических наук

Амосова И.В.

16 ноября 2022 г.

