

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

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 30 сентября 2014 г. № 4

О присуждении Плотниковой Марине Александровне учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Мультиплексные методы определения вирус-индуцированной экспрессии цитокинов на основе микрочипов и ПЦР» по специальности 03.02.02 – вирусология принята к защите 27.05.14 г., протокол №1, диссертационным советом Д 001.043.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 15/17, утвержденного приказом № 980/нк от 16 декабря 2013 г..

Соискатель Плотникова Марина Александровна, 1985 года рождения, гражданка РФ. В 2008 г. окончила кафедру биотехнологии факультета тонкого органического и микробиологического синтеза Санкт-Петербургского Государственного Технологического Института (Технического Университета). С 2006 по 2008 гг. проходила научно-исследовательскую практику, а с 2008 г., после окончания института, начала работу в должности младшего научного сотрудника в ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России.

Диссертация выполнена в лаборатории структурной и функциональной протеомики ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России.

Научный руководитель – кандидат биологических наук **Васин Андрей Владимирович**, ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, заведующий лабораторией эволюционной изменчивости вирусов гриппа.

Официальные оппоненты:

1. **Зверев Виталий Васильевич**, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии медицинских наук, директор

2. **Кордюкова Лариса Валентиновна**, доктор биологических наук, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.

Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: **Федеральное государственное бюджетное учреждение «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова» Российской академии медицинских наук**, Москва в своем положительном заключении, подписанном Ожерелковым Сергеем Викторовичем, доктором биологических наук, заведующим лабораторией иммунологии и культур тканей ФГБУ «ИПВЭ им. М.П. Чумакова» РАМН и утвержденном доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН, директором ФГБУ «ИПВЭ им. М.П. Чумакова» РАМН Михайловым Михаилом Ивановичем указала, что по значимости поставленной цели, уровню выполнимых исследований и важности полученных результатов рассматриваемая диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Соискатель имеет 42 опубликованных работы, в том числе по теме диссертации – 17 работ, из которых 5 опубликованы в рецензируемых научных изданиях.

Наиболее важные публикации:

1. Vasin, A.V. Molecular mechanisms enhancing the proteome of influenza A viruses: An overview of recently discovered proteins / A.V. Vasin, O.A. Temkina, V.V. Egorov, S.A. Klotchenko, M.A. Plotnikova, O.I. Kiselev // **Virus Research**. – 2014. – № 185. – P. 53–63.
2. Плотникова, М.А. Сравнение паттерна экспрессии мРНК цитокинов в эпителиальных клетках А-549, инфицированных вирусами гриппа А/Н1N1_{pdm09}, А/Н3N2 и А/Н5N1 / М.А. Плотникова, А.В. Васин, С.А. Клотченко и др. // **Цитокины и воспаление**. – 2013. – Т. 12 (№ 1–2). – С. 57–65.
3. Плотникова, М.А. Применение твердофазного иммуноферментного анализа в формате микрочипа для количественного определения уровня цитокинов / М.А. Плотникова, С.А. Клотченко, В.В. Егоров и др. // **Медицинская иммунология**. – 2012. – Т. 14 (№ 4–5). – С. 415–418.

4. Плотникова, М.А. Олигонуклеотидный биочип для определения профиля экспрессии генов цитокинов человека / М.А. Плотникова, А.В. Васин, Е.Ю. Марочкина и др. // **Цитокины и воспаление**. – 2011. – Т. 10 (№ 2). – С. 5–9.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв на автореферат, написанный доктором биологических наук Варюшиной Еленой Анатольевной, ведущим научным сотрудником лаборатории экспериментальной фармакологии и токсикологии ФГУП Гос. НИИ ОЧБ ФМБА России, г. Санкт-Петербург. Отзыв положительный, замечаний нет.

2. Отзыв на автореферат, написанный кандидатом химических наук Рябининым Владимиром Алексеевичем, старшим научным сотрудником лаборатории медицинской химии ИХБФМ СО РАН, Академгородок, Новосибирск. Отзыв положительный, замечаний нет.

3. Отзыв на автореферат, написанный кандидатом биологических наук, Фесенко Евгением Евгеньевичем, научным сотрудником лаборатории биологических микрочипов ИМБ РАН. Отзыв положительный, замечаний нет.

4. Отзыв на автореферат, написанный доктором биологических наук, профессором Пучковой Людмилой Валентиновной, ведущим научным сотрудником отдела молекулярной генетики ФГБУ "НИИЭМ" СЗО РАМН. Отзыв положительный, замечаний нет.

5. Отзыв на автореферат, написанный доктором биологических наук, профессором Чеботкевичем Виталием Николаевичем, заведующим лабораторией бактериологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Отзыв положительный, замечаний нет.

6. Отзыв на автореферат, написанный кандидатом физико-математических наук Коневегой Андреем Леонидовичем, заведующим лабораторией биосинтеза белка ФГБУ «ПИЯФ» НИЦ «Курчатовский институт». Отзыв положительный, замечаний нет.

7. Отзыв на автореферат, написанный кандидатом технических наук, Есиковой Надеждой Александровной, научный сотрудник лаборатории «Информационно-измерительных био- и хемосенсорных микросистем» ФГБУ "ИАП" СЗО РАН. Отзыв положительный, содержит следующие вопросы и замечания: 1) в разделе «Научная новизна» формулировка «Получен ряд интересных данных, дополняющих имеющиеся представления о штамм-специфическом вирус-индуцированном цитокиновым клеточном ответе» нуждается в расшифровке: какие именно данные, как дополняют; 2) в выносимых на защиту положениях и выводах нет важных данных об аналитических характеристиках полученного микрочипа, в частности, чувствительности; 3)

вызывает вопросы сравнение качественного анализа на разработанном микрочипе с количественным методом (ОТ-ПЦР – количественный метод). Высказанные замечания не снижают общую оценку работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой квалификацией, заинтересованностью в тематике представленного научного исследования, собственными значительными достижениями в данной отрасли науки, наличием публикаций по теме диссертации и способностью определить научную и практическую ценность выполненной научно-исследовательской работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработаны мультиплексные методы определения экспрессии цитокинов, индуцированной вирусами гриппа А (ВГА); в частности, созданы и апробированы на клеточной модели ВГА инфекции новые экспериментальные методики мультиплексного определения мРНК цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 β , IL-18, IFN- γ и TNF- α) человека на основе микрочипов и ПЦР в режиме реального времени, разработан белковый микрочип для определения цитокинов (IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, IFN- γ и TNF- α).
- специфичность и чувствительность разработанных систем сопоставимы с основными параметрами, характеризующими существующие в настоящее время аналогичные методы.
- с использованием разработанных систем показали штамм-специфические отличия в профиле экспрессии цитокинов в эпителиальных клетках A549, инфицированных филогенетически удаленными штаммами ВГА человека A/California/07/09 (H1N1_{pdm09}), A/Victoria/361/11 (H3N2), A/chicken/Kurgan/5/05 (H5N1).
- для вышеприведенных штаммов ВГА были выявлены значимые аминокислотные замены в белке NS1, который является антагонистом системы интерферонов и имеет ключевое значение в индукции противовирусного иммунного ответа.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- результаты работы расширяют представления о цитокиновом клеточном ответе на ВГА инфекцию, в том числе эпителиальными клетками, не относящимися к клеткам иммунной системы.
- полученные данные вносят новый вклад в представления о штамм-специфическом клеточном цитокиновом ответе, опосредованном, в том числе, геном NS1.

- результаты будут способствовать пониманию механизмов ВГА-индуцированной активации и регуляции экспрессии цитокинов на уровне транскрипции и трансляции.

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

- лабораторные образцы разработанных систем для оценки уровня цитокинов практически не имеют прямых доступных аналогов.
- предложенные в работе методики могут быть применены не только для анализа цитокинов при гриппе, но и для оценки цитокинового статуса при ревматоидных артритах, аллергиях, иммунодефицитах и других заболеваниях.
- методики могут быть также использованы для оценки качества лекарственных препаратов и вакцин.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- результаты подтверждаются достаточным количеством исследований и научно обоснованной интерпретацией.
- для экспериментальных работ задействован широкий комплекс современных методов, результаты получены с использованием сертифицированного оборудования, проходящего плановый и контрольно-технический осмотры
- в работе были использованы адекватные современные экспериментальные молекулярно-биологические и компьютерные методы.
- идея работы базируется на научных положениях, опубликованных по этой теме в современной литературе, и на необходимости определения цитокинового статуса при гриппозных инфекциях как при клинической диагностике с целью своевременного прогнозирования течения и исхода заболевания и выбора терапии, так и при фундаментальных исследованиях процессов в системе патоген-хозяин
- полученные в ходе исследования факты согласуются с данными, представленными в независимых источниках ранее, при этом существенно расширяют понимание отдельных аспектов изучаемого вопроса.

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельном планировании и проведении всех представленных в работе исследований. Автором самостоятельно проведен аналитический обзор литературы, интерпретация и изложение полученных данных, формулирование выводов, а также подготовка основных публикаций по теме работы.

На заседании 30 сентября 2014 года диссертационный совет Д 001.043.01 сделал вывод о том, что диссертация «Мультиплексные методы определения вирус-индуцированной экспрессии цитокинов на основе микрочипов и ПЦР»

представляет собой научно-квалификационную работу, соответствующую требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., и принял решение присудить Плотниковой Марине Александровне учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 18 докторов наук по специальности 03.02.02. – вирусология, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

- за присуждение учёной степени – 19 человек
- против присуждения учёной степени – нет;
- недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета Д 001.043.01
доктор биологических наук, профессор,
академик РАН



Киселев Олег Иванович

Ученый секретарь диссертационного
совета Д 001.043.01
кандидат медицинских наук

Суховецкая Вера Федотовна

30 сентября 2014 года