

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета НТУ.1.5.3.07
Рихтера Владимира Александровича
на диссертацию **Ряполовой Анастасии Владимировны**
«Изучение противоопухолевых свойств рекомбинантного вируса
везикулярного стоматита, экспрессирующего комбинацию
иммуностимулирующих факторов»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

Актуальность темы диссертации

Онкологические заболевания остаются одной из главных причин смертности населения во всех странах. Несмотря на значительные успехи внедрения в клиническую практику новых методов и препаратов в последние 10 - 20 лет, продолжительность жизни онкобольных увеличилась незначительно. Создание новых препаратов остаётся актуальной задачей современной молекулярной биологии. Диссертационное исследование Ряполовой А.В. посвящено разработке одного из подходов решения этой проблемы - использование онколитических вирусов для лечения злокачественных новообразований. Авторами был сконструирован рекомбинантный вирус везикулярного стоматита (rVSV), экспрессирующий слитую молекулу интерлейкина-12 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (mIL12-mGMCSF). Безусловно, исследование является актуальным, своевременным и имеет высокую научно-практическую значимость.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа имеет традиционную структуру, материалы изложены логично и последовательно на 123 страницах текста, иллюстрированы 35 рисунками и 17 таблицами.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Автором впервые сконструирован rVSV, кодирующий слитую молекулу mIL12-mGMCSF, и экспериментально подтверждена функциональная активность обоих цитокинов. Показано, что добавление трансгенов повышает онколитический потенциал вируса по сравнению с исходным GFP-несущим аналогом. При сравнении онколитической активности созданного вируса и исходного rVSV-GFP на пяти мышинных опухолевых линиях, а также на линии мезенхимальных стволовых клеток, было показано, что чувствительность разных линий раковых клеток мышцы (B16-F10, CT26.WT, H22, LL/2, SCC VII) к лизису варьирует. Было проведено сравнительное *in vivo* исследование

противоопухолевой эффективности rVSV-mIL12-mGMCSF и rVSV-GFP на двух сингенных моделях (меланома B16-F10 и рак толстой кишки CT26.WT). Установлено, что иммуностимулирующий вариант обеспечивает более длительное и статистически значимое торможение роста опухоли, а также увеличивает выживаемость животных. Важным результатом является обнаружение способности терапии на основе rVSV снижать количество иммуносупрессивных M2-подобных макрофагов в опухолевом микроокружении, что расширяет представления о механизмах действия онколитических вирусов.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость выполненной работы заключается в углублении существующих представлений о механизмах противоопухолевого действия онколитических вирусов на основе VSV. В диссертации показано, что ключевую роль в терапевтическом эффекте играют как прямой лизис опухолевых клеток, так и индуцированные изменения в опухолевом микроокружении. Кроме того, выявленные различия в клеточном ответе на инфекцию VSV расширяют знания о потенциальных маркерах чувствительности злокачественных новообразований к виротерапии, что создает основу для прогнозирования эффективности такого подхода.

Практическая значимость работы заключается, прежде всего, в создании прототипа противоопухолевого препарата на основе rVSV, обладающего высоким потенциалом для последующих доклинических исследований и, возможно, клинических исследований. Разработанные автором подходы к получению онколитического вируса, а также к дизайну доклинических экспериментов на сингенных опухолевых моделях, могут служить основой для подобных исследований в данной области. Предложенная стратегия конструирования слитых иммуномодуляторов может быть распространена на другие вирусные векторы. Представленные решения готовы к использованию как в научных, так и в профильных научно-биотехнологических центрах, занимающихся разработкой онколитических агентов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа демонстрирует логичный дизайн исследования: от создания генетической конструкции, характеристики вируса (электронная микроскопия, вестерн-блоттинг, титрование) до оценки онколитической активности *in vitro* и *in vivo* на двух моделях. Использован комплекс современных методов (проточная цитометрия, количественная ПЦР, конфокальная микроскопия, IncuCyte). Эксперименты выполнены на достаточных выборках, данные обработаны статистически корректно. Результаты опубликованы в 4 рецензируемых статьях в журналах,

индексируемых в Scopus и Web of Science (включая International Journal of Molecular Sciences), что подтверждает их высокий уровень.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации

Содержание автореферата соответствует содержанию, основным положениям и результатам диссертации.

Оценка диссертационного исследования

Диссертационное исследование Анастасии Владимировны Ряполовой представляет собой законченное научное исследование и выполнена в рамках одного из наиболее динамично развивающихся и востребованных направлений современной молекулярной биологии. В ней успешно решена актуальная задача создания нового онколитического вируса на основе VSV, несущего ген слитой молекулы mIL12-mGMCSF. Полученные автором данные о характеристиках rVSV-mIL12-mGMCSF имеют ключевое значение для потенциального применения этого онколитического вируса в терапии злокачественных новообразований. Существенным результатом работы является выявленная разница в эффективности данного вируса на сингенных моделях меланомы B16-F10 и рака толстой кишки CT26.WT, которая во многом объясняется различной чувствительностью опухолевых клеток, продемонстрированной в экспериментах *in vitro*.

Основные результаты диссертационного исследования отражены в 4 научных статьях, опубликованных в рецензируемых журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus. Тема диссертации, цели и задачи исследования, публикации по работе и положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют заявленной специальности «1.5.3. Молекулярная биология (отрасль науки – биологические, медицинские)», и соответствуют п. 12 «Молекулярная вирусология и противовирусные вещества» и п. 13 «Генная, белковая и клеточная инженерия, геномное конструирование» паспорта научной специальности 1.5.3 – молекулярная биология (биологические и медицинские науки).

Замечания по диссертации

1. Вызывает вопрос выбор онкотрансформированных клеточных линий для изучения цитотоксического действия и противоопухолевой эффективности полученного вируса. В тексте работы нет объяснения, почему были выбраны именно эти клеточные линии. Можно было бы расширить список культур, по крайней мере, для первичного скрининга.
2. Все *in vitro* результаты получены на 2D-культурах, однако в последнее время использование 3D-культур позволяет получить наиболее точные результаты, иногда диаметрально противоположные. Дополнительно сочетание подходов сокультивирования и 3D-культур позволяет провести более быстрый скрининг эффективности онколитических вирусов на

раковых моделях различной этиологии. Известно, что в университет "Сириус" успешно развивается направление по получению 3D-культур. Было бы целесообразно использовать этот потенциал для дальнейшего развития работы.

3. Исследование ограничено использованием только сингенных моделей на мышах. Оценка эффективности на более крупных животных или на ортотопических моделях, более приближенных к клинической ситуации, бы в большей мере исследовать трансляцию результатов применения rVSV от мыши к человеку.
4. Часть иллюстративного материала в тексте и приложениях требует более подробных подписей или пояснений к используемым обозначениям, что повысило бы ясность представления результатов для читателя.
5. В тексте встречаются опечатки и стилистические погрешности («ноозоологий», «осуществляется», «опухолевого узнал», «клеток линии1»), однако они не влияют на понимание содержания.

Отмеченные недостатки, однако, не снижают качества исследования не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации, описанные выше. Результаты оригинальны, обладают научной новизной и практически значимы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус»

Диссертационная работа Анастасии Владимировны Ряполовой представляет собой завершенное научно-квалификационное исследование, в котором изложены этапы конструирования и характеристики нового онколитического вируса на платформе VSV, экспрессирующего слитую молекулу иммуностимулирующих цитокинов (mIL12-mGMCSF). В рамках работы продемонстрированы функциональная активность обоих цитокинов и онколитический потенциал полученного вируса на панели опухолевых линий и мезенхимальных стволовых клетках. Полученные результаты вносят существенный вклад в развитие молекулярно-биологических подходов к терапии онкологических заболеваний и обладают значимым потенциалом для дальнейшего доклинического изучения.

Диссертационная работа Ряполовой Анастасии Владимировны «Изучение противоопухолевых свойств рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, экспрессирующего комбинацию иммуностимулирующих факторов» отвечает требованиям пп. 2.1–2.6, пп. 2.8–2.9 Положения о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», утвержденного приказом от 02 апреля 2026 г. № 469-ОД-У, предъявляемым к диссертациям на соискание

ученой степени кандидата наук, а ее автор, Ряполова А. В., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология.

Член диссертационного совета
НГУ.1.5.3.07
д.б.н., заведующий лабораторий
биотехнологий, г.н.с., Федеральное
государственное бюджетное
учреждение науки Институт
химической биологии и
фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской
академии наук

Рихтер В.А.

Дата 12.05.2026

Сведения:

ФИО

Докторская диссертация защищена по специальности
1.5.3 «Молекулярная биология»

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения
Российской академии наук

Адрес организации: 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д.
8

Телефон:

e-mail: richter@l1bio.ru



Подпись Рихтера В.А. «заверяю»
Учёный секретарь института химической
биологии и фундаментальной
медицины СО РАН, к.б.н.



Е.Б. Логашенко