

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета НТУ.1.5.3.07

Замятнина Андрея 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

Диссертация Ряполовой А.В. направлена на создание и исследование свойств нового рекомбинантного онколитического вируса, который экспрессирует слитую молекулу двух иммуностимулирующих цитокинов мыши (mIL12 и mGMCSF). Несмотря на прорыв в эффективности иммунотерапии на основании использования ингибиторов контрольных точек, множество солидных опухолей не поддаются эффективной терапии и метастазируют, значительно сокращая и усложняя жизнь пациентов.

Онколитические вирусы, модифицированные при помощи методов молекулярной биологии, являются многообещающим инструментом для активации иммунного ответа пациента для борьбы с опухолью. Выбор вируса везикулярного стоматита (VSV) обусловлен его широкой способностью к проникновению в различные клетки, в том числе и в раковые, удобством генетической модификации и хорошей изученностью благодаря использованию в разработке вакцин против вируса Эбола. Создание онколитического вируса, несущего гены двух цитокинов в форме слитого белка, потенциально может решить проблему низкой иммуногенности опухоли, активируя как механизмы врожденного, так и приобретенного иммунитета.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», заключения, выводов и приложений. Работа изложена на 123 страницах и включает 35 рисунков и 17 таблиц. Структура диссертации логична, отражает решение поставленных задач и соответствует общепринятым требованиям.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Автором впервые сконструирован рекомбинантный VSV, экспрессирующий слитую молекулу mIL12-mGMCSF (rVSV-mIL12-mGMCSF), и подтверждена функциональная активность обоих цитокинов. Сравнительная оценка онколитического потенциала этого вируса и rVSV-GFP

на панели из пяти мышинных опухолевых линий и на мезенхимальных стволовых клетках позволяет прогнозировать эффективность его использования *in vivo*. Получены новые сведения о противовирусном ответе клеток B16-F10 и LL/2 на инфекцию VSV на уровне мРНК, которые потенциально могут объяснить их разную чувствительность к вирусному онколизу. Впервые продемонстрировано, что на модели CT26.WT терапия гVSV приводит к значительному увеличению времени выживаемости животных, тогда как на модели меланомы B16-F10 эффект выражен слабее и ни одной ремиссии не наблюдалось. Важное наблюдение о снижении количества иммуносупрессивных проопухолевых M2-подобных макрофагов в опухолевом узле вследствие инъекций гVSV может объяснить наблюдаемый терапевтический эффект.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

С теоретической точки зрения данные, описанные в диссертационной работе, углубляют понимание механизмов действия онколитических вирусов: показана важность как прямого лизиса опухолевых клеток, так и изменений в опухолевом микроокружении. Выявленные различия в ответе клеток на инфекцию VSV расширяют знания о возможных маркерах чувствительности к виротерапии.

Практическая значимость определяется созданием прототипа препарата на основе VSV, который может быть эффективен и востребован в клинических исследованиях. Разработанные автором подходы к получению, контролю качества вируса и дизайну доклинических экспериментов могут служить методической основой для исследований на других сингенных моделях и в профильных научно-биотехнологических центрах.

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

Представленные в работе выводы соответствуют экспериментальным результатам. Достоверность исследования обеспечена использованием современных биологических методов и корректной статистической обработкой данных. Полученные выводы опубликованы в авторитетных международных рецензируемых журналах, что подтверждает их научную обоснованность.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации

Основные результаты, выводы и структура диссертации полно и точно представлены в автореферате.

Оценка диссертационного исследования

Диссертационное исследование Анастасии Владимировны Ряполовой представляет собой законченную научную работу, выполненную в одном из наиболее востребованных направлений современной молекулярной биологии. Автором успешно решена актуальная задача создания нового онколитического вируса на базе VSV, несущего ген слитой иммуностимулирующей молекулы. Описанные в работе данные о характеристиках rVSV-mIL12-mGMCSF имеют важное значение для потенциального применения этого вируса в терапии онкологических заболеваний. Важным фактом выступает разница в эффективности вируса на сингенной модели меланомы B16-F10 и рака толстой кишки CT26.WT, которая может быть объяснена как отличиями в чувствительности конкретных раковых клеток, продемонстрированными в *in vitro* экспериментах, так и различиями в схеме лечения.

Ключевые результаты диссертации опубликованы в 4 статьях в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах 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 (отрасль науки – биологические, медицинские).

Замечания по диссертации

1. В работе изменения содержания иммунных клеток в опухолевом узле оценены методом проточной цитометрии, однако полученные данные не были дополнительно подтверждены другими методами, позволяющими изучить состав опухолевого микроокружения.
2. Несмотря на высокий уровень работы, используемые линии животных в работе были разными, что может влиять на наблюдаемые эффекты. Так же используемые клеточные линии отличаются и по характеристикам формируемых ими опухолей (B16-F10 – «холодные» опухоли, а CT26.WT

– «горячие»). Можно ли провести прямое сравнение результатов проведенных экспериментов?

3. Большое место в диссертации уделяется потенциальному изменению опухолевого микроокружения посредством rVSV-mIL12-mGMCSF, однако в части *in vitro* исследований нет места экспериментам по сокультивированию раковых клеток, зараженных вирусом, и иммунных клеток, например, макрофагов. Такой эксперимент потенциально мог бы обогатить работу и усилить ее демонстрируемые выводы.
4. В работе разные методы молекулярной и клеточной биологии, однако нет никакой информации о применении методов математической биологии. Планируется ли их внедрение в следующие исследования с участием VSV?

Отмеченные недостатки не снижают высокого качества исследования и 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 рамках которого описан процесс получения и последующая характеристика нового онколитического вируса на платформе VSV, экспрессирующего слитую молекулу иммуностимулирующих цитокинов (mIL12-mGMCSF). Полученные результаты имеют важное значение для развития молекулярно-биологических подходов к терапии онкологических заболеваний

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
НТУ.1.5.3.07
д.б.н., профессор, исполняющий
обязанности декана факультета
биоинженерии и биоинформатики
ФБГОУ ВО «Московский
государственный университет
имени М.В.Ломоносова»

Замятнин А.А.

Дата 12.05.2026

Сведения:

ФИО

Докторская диссертация защищена по специальности
03.00.03 «Молекулярная биология» И 03.02.02 «Вирусология»
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет имени М.
В. Ломоносова»

Адрес организации: 119234, г. Москва, Ленинские горы, 1-73

Телефон: 84959394503

e-mail: zamyat@belozersky.msu.ru

