

## **ОТЗЫВ**

члена диссертационного совета НТУ.1.5.3.07

Зубковой Ольги Вадимовны

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**

Онколитическая виротерапия – одна из самых передовых стратегий лечения неизлечимых на сегодняшний день видов рака. Несмотря на обнадеживающие результаты последних лет, тот факт, что лишь небольшая часть пациентов реагирует на терапию, указывает на необходимость поиска новых подходящих вирусов. Вирус везикулярного стоматита – многообещающий кандидат с особенно ценными характеристиками. Благодаря ослаблению противовирусных реакций в раковых клетках, в частности снижению уровня передачи сигналов интерферона I типа, VSV избирательно размножается в опухолевых клетках, не затрагивая здоровые. Благодаря высокой скорости репликации и способности быстро распространяться в опухолях после внутриопухолевого или системного введения, VSV особенно эффективен при лечении солидных опухолей, к которым часто трудно получить доступ хирургическим путем или с помощью традиционных методов лечения.

Таким образом, диссертационная работа Ряполовой Анастасии Владимировны, посвященная изучению противоопухолевых свойств рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, экспрессирующего комбинацию иммуностимулирующих факторов, актуальна и крайне важна для здравоохранения.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Диссертационная работа построена по классическому принципу и состоит из введения, главы «Обзор литератур», главы «Материалы и методы», главы «Результаты экспериментальных исследований», обсуждения результатов, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Диссертация изложена на 123 страницах, включает 17 таблиц, 35 рисунков и 2 приложения. Список цитируемой литературы включает 312 зарубежных источников.

### **Научная новизна результатов диссертационной работы**

Научная новизна заключается в создании rVSV, кодирующего комбинацию иммуностимулирующих факторов в формате слитого белка. Показано, что rVSV обладает онколитической активностью против различных нозологий рака мыши *in vitro*. Терапевтический эффект был подтвержден на сингенных моделях меланомы B16-F10 и рака толстой кишки CT26.WT *in vivo*. Установлено, что способность к подавлению роста опухоли преимущественно осуществляется за счет прямого онколиза. Помимо этого, показано, что терапия rVSV приводит к снижению количества M2-подобных макрофагов в опухолевом узле.

### **Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы**

В рамках работы дополнены современные представления о терапевтической эффективности онколитического вируса везикулярного стоматита, кодирующего комбинацию иммуностимулирующих факторов. Полученный онколитический вирус может быть использован для разработки таргетных лекарственных препаратов против онкологических заболеваний. Слитая молекула иммуностимулирующих факторов, закодированная в геноме rVSV, потенциально способна привлекать иммунные клетки в микроокружение опухоли при внутриопухолевой инъекции, что повышает эффективность терапии. Кроме того, дальнейшее изучение механизма действия полученного rVSV позволит грамотно подобрать подходы для эффективной комбинированной иммунотерапии.

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

Диссертационная работа выполнена на современном методическом уровне, с использованием разнообразных моделей *in vitro* и *in vivo*. Все полученные результаты имеют статистическую оценку (уровень значимости и доверительный интервал). Представленный материал позволяет обосновать основные положения диссертации, сделать заключение о достоверности представленных данных и сформулированных выводов. Выводы соответствуют цели и поставленным задачам, отражают суть выполненной работы и следуют из полученных результатов.

### **Соответствие автореферата основному содержанию диссертации**

Автореферат диссертации соответствует содержанию диссертации, отражает основные результаты и выводы.

### **Оценка диссертационного исследования**

Диссертация Ряполовой Анастасии Владимировны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработан онколитический вирус

везикулярного стоматита, кодирующий комбинацию иммуностимулирующих факторов; терапевтический потенциал которого исследован на опухолевых клетках *in vitro* и сингенных моделях *in vivo*. Проведенная научно-исследовательская работа демонстрирует перспективы практического использования вируса везикулярного стоматита для создания эффективных онковакцинных препаратов. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выводы, которые свидетельствуют о личном вкладе автора в выполненную работу и характеризуются существенной теоретической и практической значимостью.

Основные результаты диссертационного исследования отражены в четырех статьях, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science.

Диссертационная работа соответствует пунктам 12 «Молекулярная вирусология и противовирусные вещества» и 13 «Генная, белковая и клеточная инженерия, геномное конструирование» паспорта специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки).

#### **Замечания по диссертации**

1. Несмотря на высокий уровень и научную новизну работы, в диссертации недостаточно подробно описана методика конструирования генома рекомбинантного VSV. Последовательности праймеров на гены иммуностимулирующих факторов указаны только в таблице в главе «Материалы и методы», и отсутствует подробное описание метода клонирования этих генов в геном VSV, поскольку правильная сборка генома рекомбинантного вируса является ключевым этапом работы. При этом в таблице 2.1 в качестве используемого вектора указана плаزمиды pVSV-dM51-mIL12-mGMCSF. Складывается впечатление, что геном вируса был сконструирован не автором лично. Отсутствуют данные, подтверждающие подлинность полученного рекомбинантного вируса везикулярного стоматита. Нет данных о сохранении мутации в М-белке в результате оживления и пассирования вируса в клетках ВНК-21. Также отсутствуют данные, подтверждающие наличие целевой последовательности (комбинации иммуностимулирующих факторов) в геноме вируса.
2. В классических вирусологических методах по трансдукции принято заражать клетки вирусом в дозе, например, от 0,1 до 10 инфекционных вирусных частиц на клетку – MOI (Multiplicity of Infection). Используемая доза вирусного препарата  $1 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> на 150 000 клеток, то есть 6,67 инфекционных вирусных частиц на клетку, является достаточно высокой, при которой трудно оценить разницу между цитопатическим действием вируса и цитотоксичностью.
3. Репликативная активность ВСВ с мутацией в М-белке и без (параграф 3.1.) не оценивается по количеству GFP-позитивных клеток. Это анализ трансдуцирующей активности. Для оценки репликации необходимо

- было определять количество инфекционных вирусных частиц в культуральной среде через 24 и 48 часов после заражения клеток.
- Использование термина «вирусный онколиз» не совсем корректно в отношении экспериментов на мышинных клетках меланомы B16-F10 и легочной карциномы Льюиса LL/2, тем более на основании оценки областей зеленой флуоресценции. Этот термин используется для описания процесса происходящего в организме, или метода лечения новообразований с помощью вирусов.
  - В экспериментах по оценке изменения уровня экспрессии генов под воздействием rVSV-GFP в линиях раковых клеток B16-F10 и LL/2 не хватает сравнения со здоровыми клетками. А если в нормальных клетках тоже происходит повышение транскриптов мРНК генов, можно ли делать вывод о чувствительности раковых клеток к VCB?
  - Анализ выживаемости животных с CT26.WT-индуцированной опухолью показал лучший эффект в группе животных, получивших rVSV-GFP (около 15% выжили). Вы указали, что в повторном эксперименте нет полной сходимости полученных результатов. При этом рекомбинантный вирус rVSV-mIL12-mGMCSF не имеет преимуществ по сравнению с контрольным. Как вы это объясните?
  - Как вы объясните отсутствие разницы между rVSV-GFP и rVSV-mIL12-mGMCSF в активации иммунного ответа?

Отмеченные недостатки не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации, а именно на использование вируса везикулярного стоматита в качестве онколитического вируса. Результаты оригинальны, обладают научной новизной и практической значимостью.

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

Диссертационная работа Ряполовой Анастасии Владимировны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой изложены значимые научные результаты, имеющие теоретическое и практическое значение.

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

к.б.н., в.н.с. лаборатории  
иммунобиотехнологии ФГБУ  
«НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи»  
Минздрава России

Зубкова Ольга  
Вадимовна

08.05.2026



Сведения:

*Зубкова Ольга Вадимовна*

Кандидатская диссертация защищена по специальности

03.00.03 Молекулярная биология

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Адрес организации: 123098, г. Москва. ул. Гамалеи, дом 18

Телефон: 8 926 207 65 59

e-mail: olga-zubkova@yandex.ru

Подпись Зубковой О.В. заверяю  
Ученый секретарь  
ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»  
Минздрава России



Сысолятина Е.В.