

## **ОТЗЫВ**

члена диссертационного совета НТУ.1.5.3.07  
Демидова Олега Николаевича  
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**

Диссертационная работа Ряполовой А.В. посвящена разработке и изучению нового рекомбинантного онколитического вируса на основе вируса везикулярного стоматита (VSV), экспрессирующего комбинацию иммуностимулирующих цитокинов IL-12 и GM-CSF. Несмотря на успехи современной иммунотерапии (ингибиторы иммунных контрольных точек, CAR-T-клетки), значительная часть солидных опухолей остается «холодными» и резистентными к лечению из-за иммуносупрессивного микроокружения. Онколитические вирусы, усиленные вставками генов цитокинов, представляют собой перспективный подход для «разогревания» опухолевого микроокружения.

Выбор VSV в качестве платформы обоснован его пантропизмом, простотой внесения генетических модификаций и широкой изученностью ввиду использования при разработке вакцин против вируса Эбола. Создание онколитического вируса, кодирующего гены двух цитокинов в формате слитой молекулы, является актуальной задачей в области молекулярной онкологии.

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

Диссертация изложена на 123 страницах, построена по классическому плану: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, список литературы (312 источников) и приложения. Работа логически последовательна и проиллюстрирована 35 рисунками и 17 таблицами.

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

Впервые создан рекомбинантный VSV, экспрессирующий слитую молекулу мышинового IL12 и GMCSF (rVSV-mIL12-mGMCSF), для которого показано, что оба компонента слитого белка сохраняют функциональную активность. Проведенный сравнительный анализ онколитической активности rVSV-mIL12-mGMCSF и rVSV-GFP на широкой панели мышинных опухолевых клеток (B16-F10, LL/2, SCC VII, H22, CT26.WT) и на мезенхимальных стволовых клетках дает возможность предсказать

потенциальный эффект использования разработанного онколитического вируса в *in vivo* моделях. Получены новые данные о транскрипционных изменениях в клетках B16-F10 и LL/2 в ответ на заражение VSV, которые могут объяснить различную чувствительность этих линий к вирусному онколизу.

Впервые показано, что терапия rVSV на сингенной модели рака толстой кишки CT26.WT приводит к значительному изменению индекса ТРО (80% у животных, получавших терапию rVSV-mIL12-mGMCSF, и 67% у животных, получавших терапию rVSV-GFP), в то время как на сингенной модели меланомы B16-F10 эти изменения более умеренные (27,1% у животных, получавших терапию rVSV-GFP и 36,9% у животных, получавших терапию rVSV-mIL12-mGMCSF). Также показано, что на фоне инъекций rVSV происходит снижение количества иммуносупрессивных M2-подобных макрофагов в опухолевом узле на модели CT26.WT, не влияя при этом на общую инфильтрацию CD45+ клетками и основные субпопуляции Т-лимфоцитов.

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

Теоретическая значимость работы заключается в углублении представлений о механизмах противоопухолевого действия онколитических вирусов, в частности о роли прямого онколиза и модуляции микроокружения (снижение количества M2-подобных макрофагов). Выявленные различия в транскрипционном ответе опухолевых клеток в ответ на инфекцию VSV вносят вклад в понимание маркеров чувствительности к виротерапии.

Практическая значимость состоит в создании прототипа нового генотерапевтического препарата на основе VSV, который после замены мышинных цитокинов на человеческие варианты может быть перспективным кандидатом для клинических испытаний. Разработанная схема получения и валидации вируса, а также дизайн доклинических исследований (дозы, кратность, критерии начала лечения) могут использоваться для других сингенных раковых моделей и в научно-исследовательских и биотехнологических организациях, занимающихся разработкой онколитических вирусов.

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

Все выводы диссертации логично следуют из представленных экспериментальных данных. Достоверность результатов обеспечена использованием современных методов молекулярной и клеточной биологии,

корректными биологическими и статистической обработкой. Данные *in vivo*, полученные в независимых экспериментах на двух сингенных моделях опухолей, повышают надежность выводов. Сделанные по результатам работы выводы достоверны и изложены в статьях, опубликованных в международных рецензируемых журналах высокого рейтинга.

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

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию, основным положениям и результатам диссертационной работы.

### **Оценка диссертационного исследования**

В целом, диссертационная работа Ряполовой Анастасии Владимировны является завершенным научным исследованием, выполненным в рамках одного из актуальных направлений молекулярной биологии.

В диссертации успешно решена задача разработки нового онколитического вируса на основе VSV со встроенным геном слитой молекулы иммуностимулирующих факторов. Работа содержит значимую для потенциального применения при терапии онкологических заболеваний информацию о rVSV-mIL12-mGMCSF. Особого внимания заслуживает часть, посвященная анализу иммунных клеток в опухолевом узле после rVSV-терапии, где было показано снижение проопухолевых M2-подобных макрофагов, что свидетельствует об успехе выбранного терапевтического подхода.

Основные результаты диссертационной работы представлены в 4-х статьях в рецензируемых научных журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science/Scopus, две из которых опубликованы в журналах первого квартиля (Q1).

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. Несмотря на высокий уровень и научную новизну работы, в диссертации недостаточно подробно описаны свойства раковых клеток, их

- взаимодействие друг с другом и т.д., место, уделенное разделу «1.1. Биология опухолей», должно было быть значительно больше.
2. В диссертации исследуется экспрессия гена *p53*, однако известно, что его функциональная активность регулируется на посттрансляционном уровне, поэтому анализ активности белка *p53* в ответ на заражение вирусом мог бы значительно усилить работу.
  3. В работе проводится исследование экспрессии генов *IFN*, однако противовирусный эффект *IFN* основан на эффектах белковых молекул, соответственно, необходимо использование методов ИФА или вестерн-блоттинга для получения достоверных данных об изменении противовирусного статуса клетки в ответ на заражение *rVSV*.
  4. Для иммунофенотипирования использовался метод проточной цитометрии, который показал отсутствие статистически значимых различий в инфильтрации иммунными клетками между экспериментальными группами. Могут ли быть наблюдаемые эффекты связаны с пробоподготовкой? Почему не использовался ИГХ-анализ?

**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 законченной научно-квалификационной работой, в которой описан процесс создания и характеристики нового онколитического вируса на основе *VSV*, экспрессирующего комбинацию иммуностимулирующих цитокинов *IL-12* и *GM-CSF*. Эти разработки важны для дальнейшего развития терапии раковых заболеваний, основанных на методах молекулярной биологии.

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.Б., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология.

Член диссертационного совета  
НТУ.1.5.3.07  
д.м.н., ведущий научный сотрудник  
Института цитологии РАН

Демидов О.Н.

Дата

04.05.16



Сведения:

**ФИО:** Демидов Олег Николаевич

Докторская диссертация защищена по специальности  
03.02.07 «ГЕНЕТИКА»

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт цитологии Российской академии наук

**Адрес организации:** 194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 42

Телефон: +7921 3357803

e-mail: demidov.on@mail.ru

*Подпись руки Демидова О.Н. заверю:*

*Ученый секретарь*

*ИИЦ РАН, к.б.н.*



*Беру - М.А. Бурдуева*