



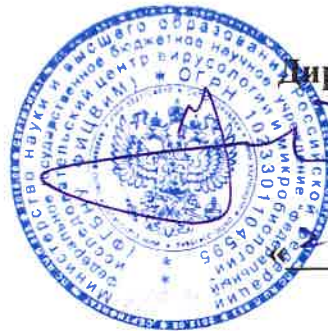
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
"Федеральный исследовательский центр
вирусологии и микробиологии"
(ФГБНУ ФИЦВиМ)

601125, Владимирская область, Петушинский район, посёлок Вольгинский, улица Академика Бакулова, строение 1.
Тел./ Факс: +7 (4922) 37-92-51, 37-92-52, 37-92-53
e-mail: info@ficvim.ru; www.ficvim.ru

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ ФИЦВиМ

Колбасов Д.В.



2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ
ФИЦВиМ)

Диссертация на тему «Функциональная характеристика гликопротеина CD2v вируса африканской чумы свиней, слитого с Fc фрагментом иммуноглобулина G свиньи» выполнена в лаборатории Молекулярной вирусологии.

В период подготовки соискатель работал в ООО «Международном биотехнологическом центре «Генериум».

В 2012 году Каторкина Е.И. окончила федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П.А. Столыпина» по специальности «Ветеринарно-санитарная экспертиза».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2020 г. Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ).

Научный руководитель – Малоголовкин Александр Сергеевич, Федеральное Государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный

исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ), главный научный сотрудник ФГБНУ ФИЦВиМ.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертация Каторкиной Елены Ивановны является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на современном научно-методическом уровне, в которой решены практические задачи по идентификации Т- и В- клеточных эпитопов в первичной последовательности белка CD2v штаммов и изолятов вируса АЧС, по созданию генно-инженерных конструкций, экспрессирующие химерные белки CD2v, содержащие Fc- фрагменты свиного IgG 1 изотипа на N- и C-конце белковой молекулы, по получению рекомбинантные химерные белки CD2v вируса АЧС, слитые с Fc фрагментом свиного IgG 1 изотипа в эукариотической системе экспрессии, по физико-химической характеристике химерных молекул Fc-CD2v и CD2v-Fc, по тестированию химерных молекул Fc-CD2v и CD2v-Fc *in vitro* на анализ пролиферации клеток РВМС, связывание с рецепторами FcγRI и FcγRn, индукцию интерферона – γ клетками РВМС.

Поставленные перед диссертантом цели и задачи реализованы в полной мере. Автореферат отражает основное содержание работы.

Диссертационная работа Каторкиной Е.И. по актуальности, новизне, научной и практической значимости полученных результатов, объему выполненных исследований, степени внедрения в практику отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым ВАК Минобрнауки России к кандидатским диссертациям.

Личный вклад, основной объем исследований проведен соискателем самостоятельно. Автору принадлежит ведущая роль в планировании и выполнении основных экспериментов и обобщении полученных результатов. Консультативную и методическую помощь при выполнении отдельных этапов работы оказывали: к.б.н. Кольцова Г.С., к.б.н. Мима К.А. к.б.н. Титов И.А., д.б.н., профессор Цыбанов С.Ж. Результаты проведенных исследований достоверны, получены с использованием большого объема экспериментального материала, обработаны статистическими методами. Выводы и практические предложения обоснованы и

вытекают из результатов исследований, изложенных в диссертации.

Научная новизна диссертационного исследования представлена следующими положениями:

Впервые получены химерные молекулы антигена CD2v вируса АЧС (штамм «Ставрополь 01/08»), слитые с Fc-доменом свиного иммуноглобулина IgG 1 изотипа, которые являются аутентичными по отношению к исходным молекулам.

Впервые получены стабильные клеточные линии «CHO-CD2-Fc» и «CHO-Fc-CD2», экспрессирующие химерные рекомбинатные молекулы Fc-CD2v и CD2v-Fc, которые обладают пролиферирующими свойствами и обладают Fc-опосредованной активностью, а также индуцируют выброс интерферона- γ .

Практическая значимость результатов исследования:

В составе вектора pCMV (Addgene, США) получены рекомбинантные экспрессионные плазмиды, несущие химерные белки Fc-CD2v и CD2v-Fc. Полученный химерный антиген CD2v, отвечающий за серотиповую специфичность вируса АЧС, с помощью технологии Fc-слияния позволит изучить характеристики и тонкие механизмы действия иммуномодулирующих белков и будет способствовать развитию стратегии для создания кандидатов вакцин против вируса АЧС.

Получены стабильные клеточные линии «CHO-CD2-Fc» и «CHO-Fc-CD2», экспрессирующие химерные рекомбинантные молекулы Fc-CD2v и CD2v-Fc вируса АЧС (штамм Ставрополь), представляющая собой уникальную модель для изучения вирус-клеточных взаимодействий вируса АЧС.

Химерные молекулы CD2v обладают Fc-опосредованной функцией связываться с Fc гамма рецепторами (FcGR1 и FcRn) в наномолярном диапазоне, что способствует активации иммунных клеток и выбросу цитокинов, такие как интерферон- γ , а также увеличению периода полувыведения за счет взаимодействия с неонатальным рецептором – FcRn.

Разработанный подход слияния свиного Fc-домена и схема получения химерных молекул CD2v-Fc с вирусными антигенами может быть применена для антигенов других инфекций свиней.

Диссертационная работа Каторкиной Е.И. полностью соответствует 7 пункту паспорта избранной специальности 03.02.02 Вирусология.

По теме диссертации опубликовано 6 научных работы, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

1. Роль и эволюция ингибиторов апоптоза (IAPS) иммуномодулирующих белков вируса африканской чумы свиней / С.А. Каторкин, Е.И. Каторкина, Г.С. Бурмакина, М.В. Шкаликова, А.С. Малоголовкин // Ветеринарная патология – 2018. Т. – 66, №4, С.- 5-12.

2. Применение технологии Fc-слияния белков для разработки вакцин против инфекционных болезней животных и человека / Е.И. Каторкина, С.Ж. Цыбанов, А.С. Малоголовкин // Сельскохозяйственная биология – 2019. - Т. 54, №4, С. - 642-654.

3. In silico идентификация В- и Т-клеточных эпитопов белка CD2v вируса африканской чумы свиней (African swine fever virus, ASFV, Asfarviridae) / К.А. Мима, Е.И. Каторкина, С.А. Каторкин, С.Ж. Цыбанов, А.С. Малоголовкин // Вопросы вирусологии – 2020, - Т. 65, №2, С. – 103-112.

4. Функциональная характеристика гликопротеина CD2v вируса африканской чумы свиней, слитого с Fc-фрагментом свиного IgG изотипа 1 / Е.И. Каторкина, К.А. Мима, С.А. Каторкин, С.Ж. Цыбанов, А.С. Малоголовкин // Материалы X Международной научнопрактической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения», 23-24 июня 2020 года.

5. Expression of ASFV CD2v protein fused with the porcine IgG Fc fragment / Mima K., Katorkina E., Katorkin S., Tsybanov S.Z., Malogolovkin A. // Материалы Международной конференции «EpiZoon», 26-28 August 2019.

6. Характеристика рекомбинантных молекул CD2v вируса африканской чумы свиней, слитые с Fc доменом свиного иммуноглобулина G / Е.И. Каторкина, С.А. Каторкин, К.А. Мима, С.Ж. Цыбанов, А.С. Малоголовкин // Материалы XIX Всероссийской молодежной научной конференции «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии» 15-16 апреля 2019 года.

Диссертация «Функциональная характеристика гликопротеина CD2v вируса африканской чумы свиней, слитого с Fc фрагментом иммуноглобулина G свиньи» Каторкиной Елены Ивановны рекомендуется к защите на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 Вирусология.

Заключение принято на расширенном заседании Совета научного сектора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» по предварительной экспертизе диссертации.

Присутствовало на заседании 8 человек из 9 членов ученого совета ФГБНУ ФИЦВИМ по межлабораторной апробации.

Результаты голосования: «за» - 8 человек, «против» - нет; «воздержалось» - нет, протокол № 1 от 26.06.2020 года.



Цыбанов Содном Жамьянович,
доктор биологических наук,
профессор, главный научный сотрудник



Гузалова Анна Григорьевна
кандидат биологических наук,
заведующий аспирантурой



Балашова Елена Алексеевна
кандидат биологических наук,
ученый секретарь ФГБНУ ФИЦВИМ