

Заключение диссертационного совета МГУ.015.4

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «05» июня 2025 г. № 5

О присуждении Грановскому Дмитрию Львовичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Создание и характеристика кандидатной вакцины против сибирской язвы на основе структурно модифицированных вирусов растений» по специальности 1.5.10 – Вирусология принята к защите диссертационным советом 03 апреля 2025, протокол № 4.

Соискатель Грановский Дмитрий Львович, 1998 года рождения. В 2019 году с отличием окончил бакалавриат ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на кафедре вирусологии биологического факультета. В 2021 году с отличием окончил магистратуру на кафедре вирусологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по направлению подготовки 06.04.01 «Биология», программе «Вирусология».

С 2021 года по настоящий момент соискатель обучается в аспирантуре биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на кафедре вирусологии по специальности 1.5.10. Вирусология.

С 2021 г. по настоящий момент соискатель занимает должность младшего научного сотрудника на кафедре вирусологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 25/12 от 24 марта 2025 г., выданная ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», подтверждает сдачу кандидатских экзаменов по английскому языку, истории и философии науки (биологические науки) и специальности 1.5.10. Вирусология на «отлично».

Диссертация выполнена на кафедре вирусологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Научные руководители:

Карпова Ольга Вячеславовна, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой вирусологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»;

Рябчевская Екатерина Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры вирусологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Официальные оппоненты:

Калинина Наталья Олеговна, доктор биологических наук, профессор. ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, ведущий научный сотрудник отдела биохимии вирусов растений

Гамбарян Александра Сергеевна, доктор биологических наук. ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов

Марданова Евгения Сергеевна, доктор биологических наук. ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», ведущий научный сотрудник лаборатории систем молекулярного клонирования

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 6 работ, из них 6 статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.10 – Вирусология.

1. Ryabchevskaya E.M., Evtushenko E.A., **Granovskiy D.L.**, Ivanov P.A., Atabekov J.G., Kondakova O.A., Nikitin N.A., Karpova O.V. Two approaches for the stabilization of bacillus anthracis recombinant protective antigen // *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2021. V. 17. № 2. P 560–565. JIF (WoS) 4,3. Доля участия 30%, 0.375 п.л.

2. Ryabchevskaya E.M., **Granovskiy D.L.**, Evtushenko E.A., Ivanov P.A., Kondakova O.A., Nikitin N.A., Karpova O.V. Designing stable bacillus anthracis antigens with a view to recombinant anthrax vaccine development // *Pharmaceutics*. 2022. V. 14. № 4. P. 806. JIF (WoS) 5.4. Доля участия 50%, 1.375 п.л.

3. **Granovskiy D.L.**, Ryabchevskaya E.M., Evtushenko E.A., Kondakova O.A., Arkhipenko M.V., Kravchenko T.B., Bakhteeva I.V., Timofeev V.S., Nikitin N.A., Karpova O.V. New formulation of a recombinant anthrax vaccine stabilised with structurally modified plant viruses // *Frontiers in microbiology*. 2022. V.13. P. 1003969. JIF (WoS) 5.2. Доля участия 50%, 0.875 п.л.

4. **Granovskiy D.L.**, Khudainazarova N.S., Evtushenko E.A., Ryabchevskaya E.M., Kondakova O.A., Arkhipenko M.V., Kovrizhko M.V., Kolpakova E.P., Tverdokhlebova T.I., Nikitin N.A., Karpova O.V. Novel universal recombinant rotavirus a vaccine candidate: Evaluation of immunological properties // *Viruses*. 2024. V. 16. № 3. P. 438. JIF (WoS) 3.8. Доля участия 40%, 1.188 п.л.

5. Khudainazarova N.S., **Granovskiy D.L.**, Kondakova O.A., Ryabchevskaya E.M., Kovalenko A.O., Evtushenko E.A., Arkhipenko M.V., Nikitin N.A., Karpova O.V. Prokaryote- and eukaryote-based expression systems: Advances in post-pandemic viral antigen production for vaccines. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024 V. 25. №. 22. P. 11979. JIF (WoS) 4,9. Доля участия 50%, 3.375 п.л.

6. Кондакова О.А., Никитин Н.А., Евтушенко Е.А., **Грановский Д.Л.**, Атабеков И.Г., Карпова О.В. Сибирская язва: жизненный цикл, механизмы патогенеза и новые концепции в развитии ветеринарных вакцин // *Сельскохозяйственная биология*. 2021. Т. 56. № 3. С. 415–433. JIF (РИНЦ) 1.5. Доля участия 25%, 1.187 п.л.

На диссертацию и автореферат поступило 3 дополнительных отзыва, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался компетентностью в соответствующей отрасли науки и наличием публикаций в соответствующей сфере исследования.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, соответствующей п. 2.1 Положения о присуждении ученых степеней в МГУ имени М.В.Ломоносова.

В диссертационной работе Д.Л. Грановского разработан и получен полноразмерный модифицированный рекомбинантный протективный антиген *Bacillus anthracis* (гРА83m) со стабилизирующими аминокислотными заменами. Полученный белок послужил основой для вакцинного кандидата против сибирской язвы. Показано, что гРА83m обладает существенно более высоким уровнем стабильности, чем немодифицированный рекомбинантный протективный антиген (РА). Данное свойство гРА83m крайне важно, поскольку нестабильность РА – главная проблема при разработке препаратов на основе этого наиболее перспективного антигена. Для полученного белка гРА83m подтверждена антигенная специфичность, соответствующая немодифицированному РА.

В качестве носителя и платформы-стабилизатора для гРА83m были выбраны структурно модифицированные частицы вируса табачной мозаики (СЧ ВТМ). Применение СЧ ВТМ в качестве стабилизатора и носителя для бактериального антигена реализовано в настоящей работе впервые. Показано, что СЧ ВТМ способны значительно увеличивать стабильность как немодифицированного рекомбинантного РА, так и гРА83m, а также адсорбировать гРА83m без изменения его антигенных свойств. На основании полученных результатов именно композиция гРА83m с СЧ ВТМ была предложена в качестве вакцинного кандидата против сибирской язвы.

Для разработанного вакцинного кандидата была проведена оценка иммуногенности и протективности на модели морских свинок. Было продемонстрировано, что как свободный гРА83m, так и композиция гРА83m+СЧ ВТМ обладают высокой иммуногенностью, которая не снижается при искусственном «состаривании» препарата при +37 °С. гРА83m, а также композиция гРА83m+СЧ ВТМ обеспечили защиту морских свинок против инфекции полностью вирулентным штаммом возбудителя сибирской язвы. При этом для вакцинного кандидата была показана 100% протективность.

В качестве альтернативного подхода к созданию вакцины против сибирской язвы были разработаны два двухдоменных рекомбинантных антигена, содержащих домены I и II – гРА(1+2)m – или домены III и IV (гРА(3+4)m) – протективного антигена сибирской язвы со стабилизирующими заменами. Для полученных белков была подтверждена антигенная специфичность, а также возможность их одновременной адсорбции на поверхности СЧ ВТМ с сохранением антигенных свойств и стабилизация в присутствии данной платформы.

Результаты, полученные Д.Л. Грановским, обладают высокой практической значимостью. Разработан стабильный и эффективный вакцинный кандидат против сибирской язвы – опасного инфекционного заболевания, профилактика которого является актуальной задачей здравоохранения и ветеринарии.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

- 1) Рекомбинантные антигены, представляющие собой полноразмерный протективный антиген (РА) *Bacillus anthracis* (гРА83m) или его двухдоменные фрагменты (гРА(1+2)m и гРА(3+4)m), модифицированные путём внесения стабилизирующих аминокислотных замен, могут быть использованы в составе вакцинного кандидата против сибирской язвы.

2) Сферические частицы (СЧ), полученные в результате термической перестройки вируса табачной мозаики (ВТМ), способны стабилизировать rPA83m, rPA(1+2)m и rPA(3+4)m, не изменяя при этом антигенную специфичность данных белков.

3) Как свободный антиген rPA83m, так и вакцинный кандидат rPA83m+СЧ ВТМ индуцируют выработку высокого титра антител к rPA83m. Длительная инкубация обоих препаратов при +37 °С не приводит к уменьшению их иммуногенности.

4) Вакцинный кандидат rPA83m+СЧ ВТМ способен обеспечить стопроцентную защиту морских свинок от инфекции полностью вирулентным штаммом сибирской язвы, при этом протективность вакцинного кандидата значимо не снижается в результате инкубации +37 °С в течение 27 дней.

На заседании 05.06.2025 г. диссертационный совет принял решение присудить Грановскому Д.Л. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, из них 7 докторов наук по специальности Вирусология, участвовавших в заседании, из 17 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 12, против 0, действительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета

Равин Н.В.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Комарова Т.В.

05.06.2025 г.