

Заключение диссертационного совета МГУ.03.12  
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «30» сентября 2019 г. №13

О присуждении Зотовой (Шунаевой) Анастасии Андреевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

**Диссертация** «Факторы рестрикции и репликации ВИЧ-1 и HTLV-1 в условиях межклеточной трансмиссии» по специальности 03.03.03 – «Иммунология» принята к защите диссертационным советом 23 августа 2019 г., протокол №8.

**Соискатель** Зотова Анастасия Андреевна, 1993 года рождения. В 2015 году соискатель окончила специалитет биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», в 2019 году – образовательную программу подготовки научно-педагогических кадров высшей квалификации в аспирантуре биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

**Соискатель работала** с 2015 года по 2017 год на должности младшего научного сотрудника в лаборатории иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, с 2017 года по настоящее время работает на должности младшего научного сотрудника в группе клеточных и генных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук.

**Диссертация выполнена** в группе клеточных и генных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук.

**Научные руководители:** кандидат медицинских наук Мазуров Дмитрий Вячеславович, руководитель группы клеточных и генных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук; доктор биологических наук, профессор Филатов Александр Васильевич, заведующий лабораторией иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства.

### Официальные оппоненты:

1. Лазарев Василий Николаевич, доктор биологических наук, доцент, заведующий отделом клеточной биологии и заведующий лабораторией генной инженерии Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства.
2. Прилипов Алексей Геннадьевич, доктор биологических наук, руководитель лаборатории «Молекулярная генетика» Института вирусологии им. Д.И. Ивановского Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
3. Анисенко Андрей Николаевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры химии природных соединений химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» дали положительные отзывы на диссертацию.

**Соискатель имеет 20 опубликованных работ**, в том числе по теме диссертации 12 работ, из них 5 статей, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 03.03.03 – «Иммунология»:

1. **Shunaeva A**, Potashnikova D, Pichugin A, Mishina A, Filatov A, Nikolaitchik O, Hu WS, Mazurov D. Improvement of HIV-1 and Human T Cell Lymphotropic Virus Type 1 Replication-Dependent Vectors via Optimization of Reporter Gene Reconstitution and Modification with Intronic Short Hairpin RNA. // J. Virol. 2015. T. 89. № 20. С. 10591–601.
2. **Zotova A**, Zotov I, Filatov A, Mazurov D. Determining antigen specificity of a monoclonal antibody using genome-scale CRISPR-Cas9 knockout library. // J. Immunol. Methods. 2016. T. 439. С. 8–14.
3. **Zotova A.**, Atemasova A., Pichugin A., Filatov A., Mazurov D. Distinct Requirements for HIV-1 Accessory Proteins during Cell Coculture and Cell-Free Infection. // Viruses. 2019. T. 11. № 5. E390.
4. **Zotova A.**, Pichugin A., Atemasova A., Knyazhanskaya E., Lopatukhina E., Mitkin N., Holmuhamedov E., Gottikh M., Kuprash D., Filatov A., Mazurov D. Isolation of gene-edited cells via knock-in of short glycoposphatidylinositol-anchored epitope tags. // Sci. Rep. 2019. T. 9:3132.
5. **Зотова А.А.**, Атемасова А.А., Филатов А.В., Мазуров Д.В. Факторы рестрикции вируса иммунодефицита человека и их неоднозначная роль в инфекции. // Молекулярная



На диссертацию и автореферат поступило 4 дополнительных отзыва, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался тем, что оппоненты являются признанными специалистами в областях науки, касающихся молекулярных основ противодействия вирусной инфекции, имеют высоко цитируемые публикации и, безусловно, способны определить научную и практическую ценности диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований показано, ВИЧ-1 использует механизмы межклеточной трансмиссии для эффективной репликации в условиях воздействия клеточных факторов рестрикции. Выявленная относительная резистентность ВИЧ-1 с делецией по вспомогательным генам *vpr* и *nef* к действию рестрикционных факторов в условиях межклеточной трансмиссии указывает на важность этого механизма распространения инфекции для ускользания вируса от клеточной защиты. Предложен алгоритм скрининга библиотеки нокаутов GeCKO в инфекционных тестах ВИЧ-1 и HTLV-1 с целью поиска факторов репликации ретровирусов. Выявленные в результате скрининга гены потенциальных факторов репликации могут служить основой для дальнейших многочисленных исследований в области взаимодействия клеток хозяина с ретровирусом, а также потенциальной возможностью описать новые и интересные молекулярные мишени антиретровирусной терапии.

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. Показано, что усовершенствование интрон-содержащих репортерных векторов путем оптимизации сплайсинга и деградации несплайсированной РНК существенно увеличивает чувствительность измерения уровней межклеточной репликации ВИЧ-1 и HTLV-1 и открывает возможности для более глубокого изучения механизмов межклеточной трансмиссии ретровирусов человека.
2. Установлено, что ВИЧ-1 использует механизмы межклеточной трансмиссии для эффективной репликации в условиях воздействия клеточных факторов рестрикции.
3. Показано, что фактор рестрикции BST2 обуславливает эффективную межклеточную трансмиссию ВИЧ-1 за счет кластеризации вирусных частиц на поверхности клеток.

4. Продемонстрировано, что библиотека нокаутов GeCKO может использоваться для определения антигенной специфичности моноклональных антител.
5. Разработка алгоритма скрининга библиотеки нокаутов GeCKO в инфекционных тестах ВИЧ-1 и HTLV-1 и последующего анализа данных высокопроизводительного секвенирования ДНК позволяют выявить клеточные факторы, участвующие в репликации ретровирусов человека.
6. Установлено, что нок-ин в целевой ген короткого эпитопного тага, экспрессирующегося на поверхности клетки, позволяет быстро отсортировать клетки с полным нокаутом по внутриклеточному или секретируемому белку.

На заседании 30 сентября 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Зотовой А.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.03.03 – «Иммунология», участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» – 20, «против» – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета

 А.Д. Виноградов

Ученый секретарь диссертационного совета

 Д.Б. Киселевский

30 сентября 2019 г.

