

## Сведения

### о результатах публичной защиты диссертации Костюшева Д.С.

**07.10.2019 г** состоялась защита диссертации Костюшева Д.С. на тему: «РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К РАЗРУШЕНИЮ КОЛЬЦЕВОЙ КОВАЛЕНТНО ЗАМКНУТОЙ ДНК ВИРУСА ГЕПАТИТА В С ПОМОЩЬЮ НУКЛЕАЗ CRISPR/CAS9», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: **03.02.02 – «вирусология».**

**Диссертационная работа выполнена** в лаборатории вирусных гепатитов ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, г.Москва.

**Научный руководитель:** Чуланов В.П., д.м.н., заведующий лабораторией вирусных гепатитов ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора.

#### Официальные оппоненты:

**Кюрегян Карен Каренович** - д.б.н., профессор РАН, заведующий отделом изучения вирусных гепатитов Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

**Нетёсов Сергей Викторович** - д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующего лабораторией молекулярной биологии РНК-вирусов ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Новосибирская обл.)

дали положительные отзывы о диссертации.

**Ведущая организация:** Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

предоставила положительный отзыв о диссертации.

**Диссертационный совет утверждён** в количестве 23 человек. **На заседании присутствовали: 18 человек**, из них 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации 03.02.02 – «вирусология», по уважительной причине отсутствовали 5 человек.

№/№	Ф.И.О.	Должность в совете	Ученая степень	Шифр специальности
1	ЛЬВОВ Д.К.	председатель	д.м.н.	03.02.02
2	БУРЦЕВА Е. И.	уч.секретарь	д.м.н.	03.02.02
3	Альтштейн А.Д.	член совета	д.м.н.	03.02.02
4	Бутенко А.М.	член совета	д.б.н.	03.02.02

5	ВОРОБЬЕВА М.С.	член совета	д.м.н.	03.02.02
6	ГАЛЕГОВ Г.А.	член совета	д.б.н	03.01.03
7	ГРЕБЕННИКОВА Т.В.	член совета	д.б.н	03.02.02
8	Зверев В.В.	член совета	д.б.н	03.01.03
9	Казеннова Е.В.	член совета	д.б.н	03.01.03
10	Логунов Д.Ю.	член совета	д.б.н	03.01.03
11	МАСАЛОВА О.В.	член совета	д.б.н	03.02.02
12	МАНЬКИН А.А.	член совета	д.б.н	03.01.03
13	НАРОДИЦКИЙ Б.С.	член совета	д.б.н	03.01.03
14	Николаева Л.И.	член совета	д.б.н	03.02.02
15	НОСИК Д. Н.	член совета	д.м.н.	03.02.02
16	СОКОЛОВА Т.М.	член совета	д.б.н	03.02.02
17	УРЫВАЕВ Л.В.	член совета	д.м.н.	03.02.02
18	Шалунова Н.В.	член совета	д.м.н.	03.02.02

**Состав счетной комиссии:** д.м.н., проф. Бутенко А.М., д.м.н., профессор Шалунова Н.В., д.б.н. Соколова Т.М.

**Результаты тайного голосования** по вопросу присуждения Костюшеву Дмитрию Сергеевичу ученой степени кандидата биологических наук:

Роздано бюллетеней – 18; Осталось нерозданных – 5; Оказалось в урне бюллетеней – 18.

**Результаты голосования:** за присуждение ученой степени кандидата биологических наук Костюшеву Дмитрию Сергеевичу подано голосов – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

**Постановили:** по результатам тайного голосования членов совета (за присуждение ученой степени – 18, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет) считать, что диссертация Костюшева Дмитрия Сергеевича соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями в редакции постановлений Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от

02.08.2016 г. №748, от 28.08.2017 г. №1024, от 10.11.2017 г. №1093, от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к диссертационным работам, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, и присудить **Костюшеву Дмитрию Сергеевичу** ученую степень кандидата биологических наук.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.130.03,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮД-  
ЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПОЧЕТНОГО  
АКАДЕМИКА Н.Ф. ГАМАЛЕИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕ-  
НОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 07 октября 2019 г., № 6

О присуждении **Костюшеву Дмитрию Сергеевичу**, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К РАЗРУШЕНИЮ КОЛЬЦЕВОЙ КОВАЛЕНТНО ЗАМКНУТОЙ ДНК ВИРУСА ГЕПАТИТА В С ПОМОЩЬЮ НУКЛЕАЗ CRISPR/CAS9», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.02 – «вирусология» принята к защите 15 июля 2019 г. (протокол заседания № 4) Диссертационным советом Д208.130.03, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д.18), утвержденного приказом ВАК РФ от 18 ноября 2016 г. № 1477/нк.

Соискатель **Костюшев Дмитрий Сергеевич**, 1991 года рождения, гражданин России, в 2014 г. окончил фармацевтический факультет федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет) (специальность –

«провизор»). После окончания университета в 2014 г. поступил на работу в должности младшего научного сотрудника в лабораторию вирусных гепатитов федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, где и работает по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории вирусных гепатитов федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора.

**Научный руководитель:** Чуланов Владимир Петрович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией вирусных гепатитов федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора.

**Официальные оппоненты:**

Кюрегян Карен Каренович – профессор РАН, доктор биологических наук, заведующий отделом изучения вирусных гепатитов научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России),

Нетёсов Сергей Викторович – член-корр. РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией бионанотехнологии, микробиологии и вирусологии факультета естественных наук федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» –

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека – в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором, заведующей лабораторией вирусных гепатитов Эсауленко Еленой Владимировной, указала, что «диссертация Костюшева Дмитрия Сергеевича, на тему «Разработка подходов к разрушению кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вируса гепатита В с помощью нуклеаз CRISPR/CAS9», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – Вирусология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная задача – установлен подход к разрушению кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вируса гепатита В с помощью нуклеаз CRISPR/Cas9, имеющие существенное значение для вирусологии.

По своей актуальности, научно новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительством Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842 с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016г. «О внесении изменений в Положение о присуждении научных степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – Вирусология».

Соискатель имеет 5 опубликованных работ по теме диссертации в ведущих рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК при Минобрнауки Российской Федерации. Имеется 1 патент РФ на изобретение.

Авторский вклад в публикациях 72%. Общий объем научных публикаций составил 5,43 печатных листов.

Все заявленные Костюшевым Дмитрием Сергеевичем научные работы по теме диссертации являются подлинными, достоверность сведений о публикациях подтверждается представленными ксерокопиями.

Наиболее значимые работы, опубликованные по теме диссертации:

1. **Kostyushev D.** Orthologous CRISPR/Cas9 systems for specific and efficient degradation of covalently closed circular DNA of hepatitis B virus/ Kostyushev D., Brezgin S., Kostyusheva A., Zarifyan D., Goptar I., Chulanov V.//Cellular and Molecular Life Sciences. 2019. №76(9), с. 1779-1794.
2. **Костюшев Д.С.** Роль ДНК-метилтрансфераз в жизненном цикле вируса гепатита В и патогенезе хронического гепатита В/ Костюшев Д.С., Зуева А.П., Брезгин С.А., Липатников А.Д., Волчкова Е.В., Малеев В.В., Чуланов В.П.//Вопросы Вирусологии. 2018. №63(1), с. 19-29.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

Лукашева А.Н. – доктора медицинских наук, профессора РАН, директора Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет),

Беликовой-Исагулянц М.Г. – кандидата химических наук, старшего научного сотрудника федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН».

Отзывы положительные, принципиальных замечаний не содержат. В них отмечается высокая научная и практическая ценность результатов

исследований, что позволило на основании полученных результатов разработать новый эффективный подход к элиминации кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вируса гепатита В с помощью систем CRISPR/Cas9, обладающих активностью сайт-специфических нуклеаз. Отмечается, что диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается известностью специалистов и организации в области изучаемой проблемы и наличием у них научных публикаций по изучаемой диссертантом проблеме.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработаны** высокоэффективные РНК-проводники системы CRISPR/Cas9 *Streptococcus pyogenes* (Sp20, Sp37) и системы *Streptococcus thermophilus* (St3, St4, St10);

**определено**, что системы *Neisseria meningitidis* и *Francisella novicida* не оказывают выраженного эффекта на моделях ВГВ и не снижают транскрипцию и репликацию вируса;

на основе полученных результатов **создан** подход по высокоспецифичному разрушению генома вируса гепатита В системами нуклеаз CRISPR/Cas9, направленных к высококонсервативным регионам генома вируса;

**представлены** данные об отсутствии внецелевой активности системы CRISPR/Cas9 от организма *Streptococcus thermophilus* для всех исследованных участков внецелевого действия и о влиянии несовпадений нуклеотидов между РНК-проводником системы CRISPR/Cas9 от организма *Streptococcus thermophilus* и ДНК-мишенью на противовирусное и нуклеолитическое действие системы.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:



**для экспериментальных работ** использованы современные инструментальные методы, современные методы обработки информации и статистики. Работа выполнена на сертифицированном оборудовании с использованием стандартизованных методик и реактивов. Достоверность результатов исследования и обоснованность сделанных автором выводов подтверждается использованием комплекса вирусологических, молекулярно-биологических, клеточных, биоинформатических и статистических методов исследования. Представленный объем материала и качество проведенных исследований достаточен для решения поставленных задач и получения достоверных результатов. Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, хорошо обоснованы и подтверждены фактическим материалом, что позволяет считать полученные результаты достоверными, сделанные выводы обоснованными и вытекающими из результатов проведенных исследований.

**теория** построена на известных, проверяемых данных, фактах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

**идея базируется** на анализе доступной литературы, обобщении передового опыта.

**использовано** сравнение данных, полученных при выполнении диссертационной работы, с данными, полученными ранее по рассматриваемой тематике;

**установлено,** выводы диссертации полностью соответствуют поставленным задачам, а достоверность полученных результатов обеспечивается грамотным планированием, большим объемом проведенных исследований и использованием адекватных современных научно-исследовательских методик. Результаты работы критически проанализированы с использованием литературных данных последних лет.

**Личный вклад соискателя состоит в:**

- самостоятельном проведении всех вирусологических, молекулярно-биологических, клеточных и биоинформатических, которые выполнялись на базе лаборатории вирусных гепатитов федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, под руководством заведующего лабораторией, д.м.н. В.П. Чуланова, обобщении, анализе и статистической обработке полученных данных, подготовке и написанию публикаций, в том числе в англоязычной литературе.

**Результаты исследования могут быть использованы** для создания противовирусных препаратов новых поколений на основе высокоэффективной и специфичной системы сайт-специфических нуклеаз CRISPR/Cas9 от организма *Streptococcus thermophilus*.

#### **Заключение:**

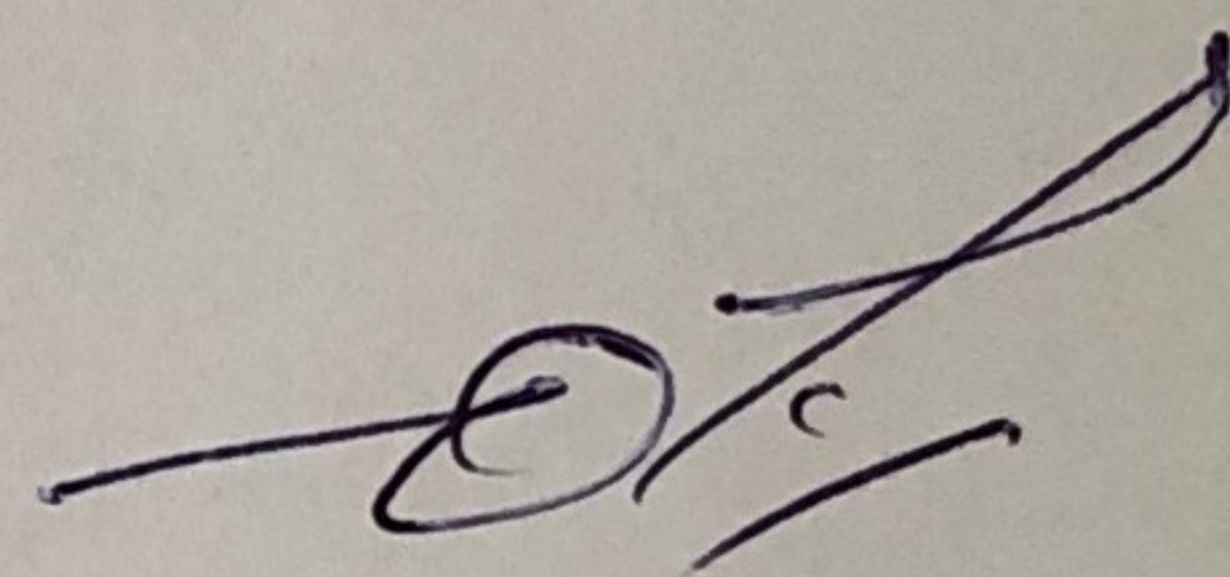
Таким образом, диссертационная работа **Костюшева Дмитрия Сергеевича** на тему: «РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К РАЗРУШЕНИЮ КОЛЬЦЕВОЙ КОВАЛЕНТНО ЗАМКНУТОЙ ДНК ВИРУСА ГЕПАТИТА В С ПОМОЩЬЮ НУКЛЕАЗ CRISPR/CAS9», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «вирусология», является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по созданию на основе систем нуклеаз CRISPR/Cas9 эффективных и безопасных подходов к разрушению геномов и элиминации ВГВ. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. По актуальности, научной новизне, практической значимости работа Костюшева Дмитрия Сергеевича полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г., №1024 от 28.08.2017 г., №1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на

соискание ученой степени кандидата биологических наук. Автор диссертационной работы Костюшев Дмитрий Сергеевич достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «вирусология».

На заседании 07 октября 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Костюшеву Дмитрию Сергеевичу ученую степень кандидата биологических наук.

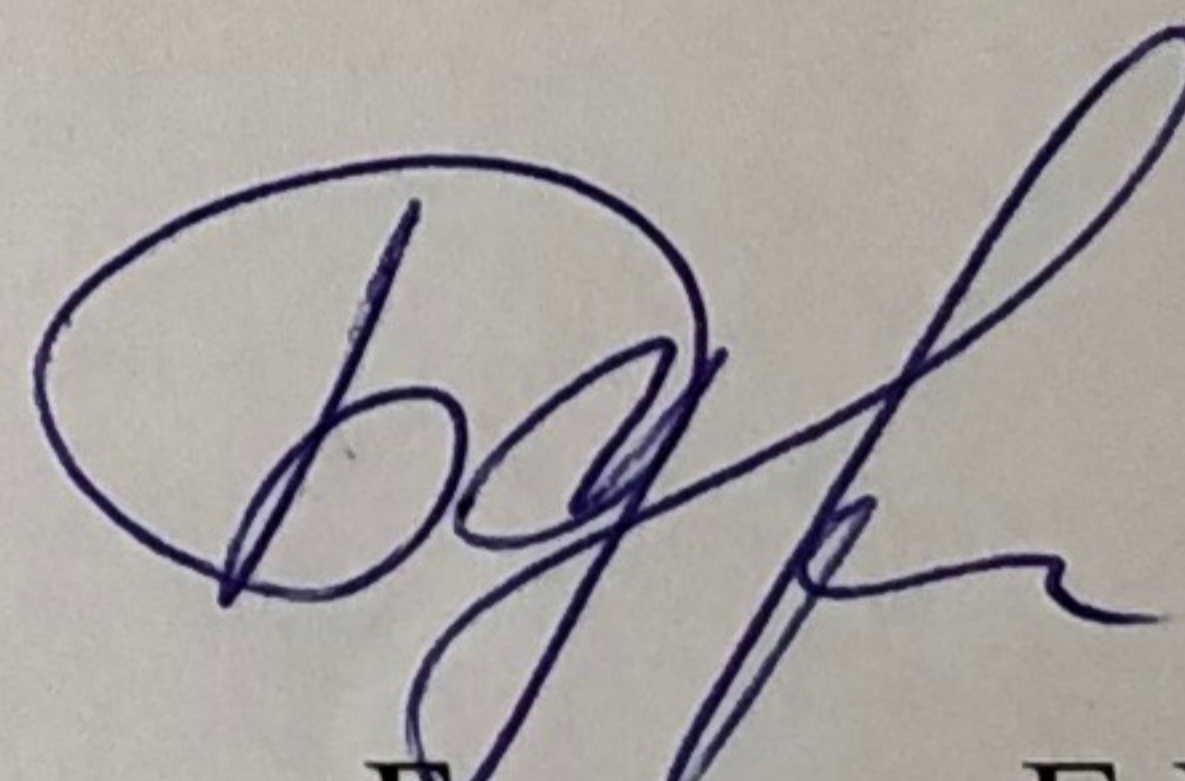
При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.02.02 – «вирусология», участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18 , против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,  
академик РАН, профессор, д.м.н.



Львов Д.К.

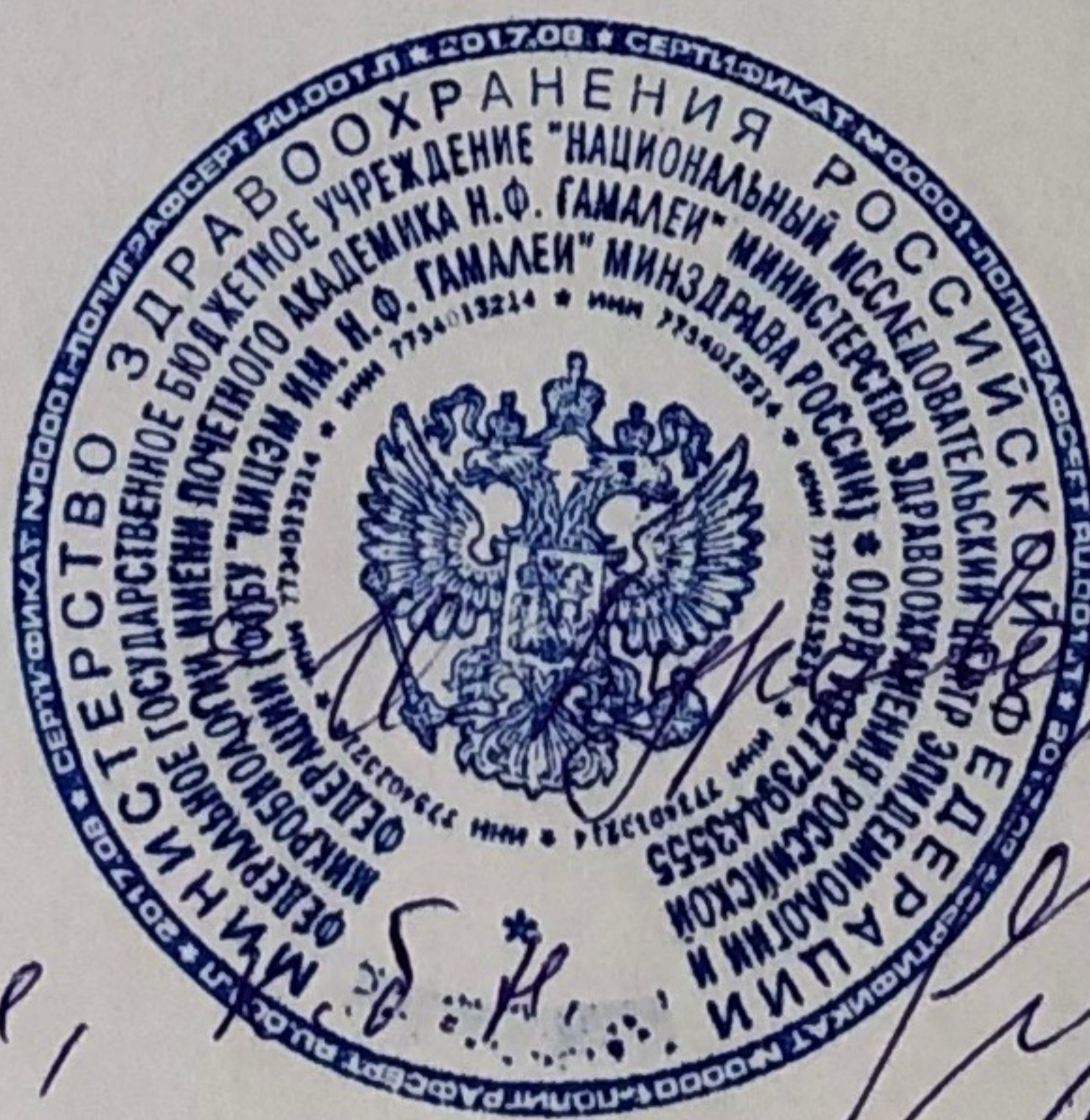
Ученый секретарь диссертационного совета,  
д.м.н.



Бурцева Е.И.

«07» октября 2019 г.

*Подписи Д.К. Львова и  
А.О. Ученого секретаря,*



*Специально заверено  
Специально*