

Сведения
о результатах публичной защиты диссертации
Щеблякова Дмитрия Викторовича

28 марта 2025 года на заседании Диссертационного совета 21.1.018.03 состоялась защита диссертации **Щеблякова Дмитрия Викторовича** на тему «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки).

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант:

Логунов Денис Юрьевич – доктор биологических наук, академик РАН, заместитель директора ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Кудлай Дмитрий Анатольевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Костинов Михаил Петрович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

Алешкин Андрей Владимирович, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор РАН, директор по новым продуктам ООО «Орфан-Био»

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский

государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург)

Диссертационный совет утвержден в количестве 17 человек. Дополнительно в состав совета введено 4 члена по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки). Присутствовали 18 человек с правом решающего голоса, в том числе, 5 докторов наук по специальности 3.2.7. – Иммунология; 6 докторов наук по специальности 1.5.11 – Микробиология и 4 доктора наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология; 2 кандидата наук по специальности 3.2.7. – Иммунология, 1 кандидат наук по специальности 1.5.11 – Микробиология.

По уважительным причина отсутствовало 2 человека из состава совета. Член диссертационного совета по специальности 1.5.11 – Микробиология к.б.н. Щебляков Д.В. присутствовал без права решающего голоса.

Присутствовавшие члены совета:

Пронин Александр Васильевич – заместитель председателя совета, доктор биологических наук, профессор, 3.2.7. – иммунология. Председательствующий.

Зигангирова Наиля Ахатовна – заместитель председателя совета, доктор биологических наук, профессор, 1.5.11.-микробиология.

Ермолаева Светлана Александровна – ученый секретарь, доктор биологических наук, 1.5.11.-микробиология

Должикова Инна Вадимовна – член совета, кандидат биологических наук, 3.2.7. – иммунология

Есмагамбетов Ильяс Булатович – член совета, кандидат биологических наук, 3.2.7. – иммунология

Каратаев Геннадий Иванович - член совета, доктор биологических наук, 1.5.11.-микробиология

Кунда Марина Сергеевна - член совета, кандидат биологических наук, 1.5.11.-микробиология

Логунов Денис Юрьевич – академик РАН, доктор биологических наук, 1.5.11.-микробиология

Мезенцева Марина Владимировна - член совета, доктор биологических наук, 3.2.7. – иммунология

Наровлянский Александр Наумович - член совета, доктор биологических наук, профессор, 3.2.7. – иммунология

Романова Юлия Михайловна - член совета, доктор биологических наук, профессор, 1.5.11.-микробиология

Санин Александр Владимирович - член совета, доктор биологических наук, профессор, 3.2.7. – иммунология

Тартаковский Игорь Семенович - член совета, доктор биологических наук, профессор, 1.5.11.-микробиология

Шмаров Максим Михайлович - член совета, доктор биологических наук, 3.2.7. – иммунология

Донова Марина Викторовна – введенный член совета, доктор биологических наук, 1.5.6. – Биотехнология

Затевалов Александр Михайлович - введенный член совета, доктор биологических наук, 1.5.6. – Биотехнология

Карягина-Жулина Анна Станиславовна - введенный член совета, доктор биологических наук, 1.5.6. – Биотехнология

Шилов Илья Александрович - введенный член совета, доктор биологических наук, 1.5.6. – Биотехнология

Состав счетной комиссии

Есмагамбетов Ильяс Булатович – член совета, кандидат биологических наук

Должикова Инна Вадимовна – член совета, кандидат биологических наук,

Кунда Марина Сергеевна - член совета, кандидат биологических наук

Результаты тайного голосования по вопросу присуждения Щеблякову Дмитрию Викторовичу ученой степени доктора биологических наук: Роздано бюллетеней – 18. Осталось не розданных бюллетеней – 3. Оказалось в урне бюллетеней – 18. Результаты голосования: **ЗА** присуждение Щеблякову Дмитрию Викторовичу ученой степени доктора биологических наук подано голосов 18, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Постановили по результатам тайного голосования членов диссертационного совета (за присуждение ученой степени – 18, против присуждения ученой степени – 0, недействительных бюллетеней – 0) считать, что диссертация Щеблякова Дмитрия Викторовича соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (в редакции Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 22.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 26.10.2023 №1786, с последними изменениями от 16.10.2024 N 1382, с

изменениями и дополнениями, вступившими в силу с 01.01.2025),
предъявляемым к диссертационным работам, представляемым на соискание
ученой степени доктора наук, и присудить **Щеблякову Дмитрию
Викторовичу** ученую степень **доктора биологических наук** по
специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6.
Биотехнология (биологические науки).

Зам. председателя
диссертационного совета
21.1.018.03
доктор биологических наук, профессор

А.В. Пронин

Учёный секретарь
диссертационного совета
21.1.018.03
доктор биологических наук

С. А. Ермолаева

«28» марта 2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.018.03, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА Н.Ф. ГАМАЛЕИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело №
решение диссертационного совета от 28 марта 2025 года № 3

О присуждении Щеблякову Дмитрию Викторовичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Универсальная технологическая платформа для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки) и 1.5.6. Биотехнология (биологические науки), принята к защите 28 марта 2025 года (протокол заседания № 3) диссертационным советом 21.1.018.03, 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), утвержденным приказом на основании приказа Министерства науки и высшего образования Российской Федерации №2286/нк от 12 декабря 2023 г.

Щебляков Дмитрий Викторович, 1983 года рождения. В 2005 г. соискатель окончил Курский Государственный Медицинский Университет (г.Курск, Россия) по специальности «Биотехнология».

В период с 2005 по 2009 гг. Щебляков Дмитрий Викторович проходил обучение в очной аспирантуре в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. В 2009 году Щебляков Дмитрий Викторович защитил диссертацию по теме «Влияние микоплазм на пролиферацию и устойчивость к апоптозу опухолевых клеток, несущих Толл-подобные рецепторы 2 и 6» по

специальностям 03.00.07 – «микробиология» и 03.00.03 – «молекулярная биология» в диссертационном совете Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Номер диплома ДКН 091737, выдан по решению Высшей Аттестационной Комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации от 03 июля 2009 № 27к/87.

В период подготовки докторской диссертации (и по настоящее время) соискатель работал в ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России в должности младшего, научного, а позднее старшего научного сотрудника в лаборатории молекулярной биотехнологии. С 2016 года работает в должности ведущего научного сотрудника и по совместительству в должности заведующего лабораторией иммунобиотехнологии.

Докторская диссертация выполнена на базе лаборатории иммунобиотехнологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант:

Логунов Денис Юрьевич – доктор биологических наук, академик РАН, заместитель директора ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Кудлай Дмитрий Анатольевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). Отзыв оппонента содержит следующие замечания и вопросы:

Необходимо отметить, что в обосновании актуальности своей диссертационной работы автор ссылается на недостатки присущие современным терапевтическим антителам. Прежде всего автор ссылается на недостатки в биодоступности для органов и тканей классических полноразмерных антител. При этом данные о сравнительных фармакокинетических исследованиях и исследованиях биодоступности для органов и тканей, так же, как и сравнительные исследования стабильности не приводятся. Разработанные тест-системы на основе неканонических антител не сравниваются по эксплуатационным свойствам с тест-системами на основе классических антител.

В качестве замечаний к разделу 3.2.1 хотелось бы отметить следующее:

1) Описание результатов эксперимента по оценке протективной активности антител на модели летальной инфекции мышей rVSV-GP показывает, что 100% выживаемость мышей обеспечивается только при одновременном введении антител с вирусом rVSV-GP. При этом введение антител уже через 2 часа после инфицирования сопровождается существенным снижением показателя выживаемости мышей.

2) Учитывая высокую терапевтическую дозу (50 мг/кг) антител вводимых *in vivo*, можно предположить наличие ускоренного клиренса антител из организма за счет лимита взаимодействия с неонатальным Fc рецептором (FcRn). Если целью применения является быстрое выведение комплекса антитела с вирусом, то такая доза оправдана, но в этом случае модификация однодоменных антител с Fc-фрагментом выглядит излишней.

3) Стоит отметить, что в эксперименте на макаках-резусах наилучший защитный эффект был показан на комбинации антител с классическим строением цепей

4) Результаты фармакокинетики представлены только с использованием однократного введения мышам, что может быть недостаточным для корректного измерения всех фармакокинетических параметров.

5) Не в полном объеме представлены результаты некоторых доклинических исследований токсичности, а также дизайна клинических исследований (обоснования выбора доз, способа введения препарата, изменения биохимических параметров, описания критериев переносимости препарата и ее интерпретации). Кроме того приведенные отрывочные данные по наблюдавшимся нежелательным явлениям не отражают характеристик безопасности в полной мере.

Описание разработки препарата ГамКовиМаб выполнено более полно, однако хотелось бы также увидеть в данном случае более подробное описание результатов исследования токсичности и клинического исследования.

Стоит отметить, что большая часть экспериментальной работы, представленная автором, посвящена использованию разработанной технологии для целей терапии, тогда как ее диагностический потенциал описан в меньшей степени.

Костинов Михаил Петрович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова». Отзыв оппонента содержит следующие замечания и вопросы:

По представленной диссертационной работе принципиальных замечаний нет, однако стоит отметить большое число стилистических и орфографических ошибок, не полное описание подписей к некоторым рисункам, а также ограниченный формат представления некоторых данных (полные данные о проведенных доклинических и клинических исследованиях). Однако, указанные недостатки не оказывают существенного влияния на общую положительную оценку данного диссертационного исследования. По мере знакомства с основными результатами работы, возникают следующие вопросы:

1. Каковы перспективы применения препаратов на основе однодоменных антител в клинической практике для борьбы с инфекционными заболеваниями?

2. Несмотря на то, что автор не ставил задачу проведения сравнительных исследований однодоменных антител и антител, имеющих каноническое строение, можно ли провести сравнительную оценку их эффективности для борьбы с инфекционными агентами. Какова длительность сохранения клинического эффекта препаратов на основе однодоменных антител?

3. Имеет ли разработанная автором технологическая платформа заверченный вид и каковы перспективы ее дальнейшего развития?

Алешкин Андрей Владимирович, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор РАН, директор по новым продуктам ООО «Орфан-Био». Отзыв оппонента содержит следующие замечания и вопросы:

1. Каков формат клинического применения однодоменных антител для борьбы с вирусными инфекциями и можно ли применять интраназальный способ введения для эффективной борьбы с патогенами, вызывающими респираторные инфекции?

2. Учитывая наличие данных клинических исследований, можно ли сделать вывод о безопасности применения препаратов на основе однодоменных антител?

3. Каковы перспективы применения рекомбинантных бактериофагов, несущих на своей поверхности нейтрализующие антитела не только для проведения селекции, но и для терапии инфекций в клинической практике?

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства

заклучении, подготовленным доктором биологических наук, доцентом, заведующей кафедрой фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России Повыдыш Марией Николаевной и доктором фармацевтических наук, профессором, заведующей кафедрой технологии лекарственных форм ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России Флисюк Еленой Владимировной и утвержденным ректором ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, доктором фармацевтических наук, профессором Наркевичем Игорем Анатольевичем, отмечает, что «диссертационная работа Щеблякова Дмитрия Викторовича «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) является законченной является научно-квалификационной работой, в которой автором решена задача разработки универсальной технологической платформы, позволяющей создавать препараты на основе однодоменных антител, направленных на борьбу с инфекционными заболеваниями человека и подтвержден потенциал ее использования на различных моделях. Таким образом, диссертационная работа Щеблякова Дмитрия Викторовича «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител» по своей актуальности, новизне, научно-практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 и последующих редакций Постановлений Правительства РФ (включая N 415 от 18.03.2023, N 1786 от 26.10.2023, N 62 от 25.01.2024 и N 1382 от 16.10.2024), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Щебляков Дмитрий Викторович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки).

Основные результаты диссертационной работы отражены в печатных публикациях, в том числе 38 печатных работ, 26 из которых - в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации основных научных результатов диссертации, а также в 9 патентах РФ на изобретение.

Общий объём публикаций составил 41,5 печатных листа и содержит 72,41% авторского вклада. Оригинальность диссертационной работы, определенная по системе «Антиплагиат», составляет 90,1%.

Все заявленные Щебляковым Дмитрием Викторовичем научные работы по теме диссертации являются подлинными, достоверность сведений о публикациях подтверждаются представленными ксерокопиями, а также наличием публикаций в информационных системах РИНЦ, Scopus и Web of Science.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Burmistrova D.A. Genetic passive immunization with adenoviral vector expressing chimeric nanobody-Fc molecules as therapy for genital infection caused by *Mycoplasma hominis* / Burmistrova D.A., Tillib S. V., **Shcheblyakov** D.V., Dolzhikova I. V., Shcherbinin D. N., Zubkova O. V., Ivanova T. I., Tukhvatulin A. I., Shmarov M. M., Logunov D. Y., Naroditsky B. S., Gintsburg A. L. // **PLoS One**. – 2016. – Vol. 11. – №. 3. IF = 2.9.

2. Godakova S. A. Camelid VHHs fused to human Fc fragments provide long term protection against botulinum neurotoxin A in mice / Godakova S. A., Noskov A. N., Vinogradova I.D., Ugriumova G. A., Solovyev A. I., Esmagambetov I. B., Tukhvatulin A. I., Logunov D. Y., Naroditsky B. S., **Shcheblyakov** D.V. and A. L. Gintsburg // **Toxins**. – 2019. – Vol. 11, № 8. – C. 464. IF = 3.9.

3. **Shcheblyakov** D. Development and characterization of two GP-specific monoclonal antibodies, which synergistically protect non-human primates against Ebola lethal infection / Shcheblyakov D., Esmagambetov I., Simakin P., Kostina L., Kozlov A., Tsibezov V., Grebennikova T., Zubkova O., Tuhvatulin A., Logunov D., Naroditsky B., Gintsburg A., Chifanov D., Rumyantseva I., Boyarskaya N., Sizikova T., Shagarova N., Andrus A., Shatohina I., Syromyatnikova S., Kovalchuk A., Pantyukhov V., Borisevich S. // **Antiviral Research**. – 2019. – Vol. 172. – C. 104617. IF = 4.5.

4. Esmagambetov I.B. Nanobodies are potential therapeutic agents for the Ebola virus infection / Esmagambetov I.B., **Shcheblyakov** D.V., Egorova D.A., Voronina O.L., Derkaev A.A., Voronina D.V., Popova O., Ryabova E.I., Shcherbinin D.N., Aksenova E.I., Semenov A.N., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Zubkova O.V., Tukhvatulin A.I., Logunov D.Yu., Naroditsky B.S., Borisevich S.V., Gintsburg A.L. // **Acta Naturae**. - 2021. - Vol. 13, № 4. - C. 53-63. IF = 2.0.

5. Favorskaya, I. A. Single-domain antibodies efficiently neutralize sars-cov-2 variants of concern / Favorskaya, I. A., **Shcheblyakov**, D. V., Esmagambetov, I. B., Dolzhikova, I. V., Alekseeva, I. A., Korobkova, A. I., Voronina D. V., Ryabova E. I., Derkaev A. A., Kovyrshina A. V., Iliukhina A. A., Botikov A. G., Voronina O. L., Egorova D. A., Zubkova O. V., Ryzhova N. N., Aksenova E. I., Kunda M. S.,

Logunov D. Y., Naroditsky B. S., Gintsburg A. L. // **Frontiers in Immunology**. – 2022. – Т. 13. IF = 5.7.

6. Sluchanko N. N. Structural Basis for Evasion of New SARS-CoV-2 Variants from the Potent Virus-Neutralizing Nanobody Targeting the S-Protein Receptor-Binding Domain. / Sluchanko N. N., **Shcheblyakov D. V.**, Varfolomeeva L. A., Favorskaya I. A., Dolzhikova I. V., Korobkova A. I., Alekseeva I. A., Esmagambetov I. B., Derkaev A. A., Prokofiev V. V., Zorkov I. D., Logunov D. Y., Gintsburg A. L., Popov V. O., Boyko K. M. // **Biochemistry (Moscow)**. - 2024. - Т.89, №7. – с.1260-1272. IF = 2.908.

7. **Shcheblyakov D. V.** Broadly Reactive Nanobody Targeting the H3 Hemagglutinin of the Influenza A Virus / Shcheblyakov D. V., Voronina D. V., Favorskaya, I. A., Esmagambetov I. B., Alekseeva I. A., Korobkova A. I., Gintsburg A. L. // *Acta Naturae*. – 2024. – Т. 16. – №. 1. – С. 101. IF = 2.0.

8. Sluchanko N. N. Structural insight into recognition of *Clostridioides difficile* toxin A by novel neutralizing nanobodies targeting QTIN-like motifs within its receptor-binding domain // *International Journal of Biological Macromolecules*. / Sluchanko N. N., Sokolova I. V., Favorskaya I. A., Esmagambetov I. B., Tukhvatulin A. I., Alekseeva I. A., Ungur A. S., Varfolomeeva L. A., Boyko K. M., Logunov D. Y., Gintsburg A. L., Popov V. O., **Shcheblyakov D. V.**, Belyi Y. F. // **International Journal of Biological Macromolecules**. – 2024. – Т.263. - С. 137910. IF = 7.7.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

Уласова Ильи Валентиновича – доктора биологических наук, профессора, ведущего научного сотрудника отдела современных биоматериалов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Казанского Дмитрия Борисовича – доктора биологических наук, заведующего лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России.

Белоусова Всеволода Вадимовича - доктора биологических наук, член-корреспондента РАН, заведующего отделом метаболизма и редокс-биологии ИБХ РАН, директора Института Нейронаук и Нейротехнологий в ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский университет), Генерального директора Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства.

Катрухи Алексея Генриховича - доктора биологических наук, профессора, заведующего кафедрой биохимии биологического факультета Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова.

Купраша Дмитрия Владимировича – доктора биологических наук, профессора РАН, члена-корреспондента РАН, главного научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН).

Представленные отзывы положительные, замечаний не содержат.

Отмечается, что диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией и известностью специалистов, и организации в области изучаемой проблемы, а также наличием у них научных публикаций, близких к изучаемой диссертантом проблеме.

Результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на следующих мероприятиях:

1) III Объединенном иммунологическом форуме (Нижний Новгород, 2013); 2) I Международной молодежной биотехнологической школе-конференции «Биотехнология: от бактериофагов до вакцин» (Барнаул, 2014); 3) 19-ой Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2015); 4) Международном конгрессе «Инновационные технологии в иммунологии и аллергологии» (Москва, 2015); 5) научной сессии НИЯУ МИФИ (Москва, 2015); 6) III Московском Конгрессе кардиологов (Москва, 2021); 7) IX Научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», проведенной в рамках XI всероссийского фестиваля науки (Москва, 2021); 8) 45 Конгрессе FEBS “Molecules of Life: Towards New Horizons“ (2021, Любляна, Словения); 9) XI Ежегодной международной цифровой научно-практической конференции «Аллергология-иммунология: от традиции к инновациям» (Москва, 2022г); 10) IX Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (г. Сочи, 2022); 11) I Российском конгрессе по медицинской микробиологии и инфектологии (2023, Москва); 12) Первом Российском конгрессе по медицинской микробиологии и инфектологии (РКММИ) (г.Москва, 2023г.); 13) втором Саммите разработчиков лекарственных

препаратов «Сириус.Биотех» (г. Сочи, 2024), 14) VI Международной конференции ПОСТГЕНОМ'2024 (г. Москва, 2024).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработана универсальная технологическая платформа, позволяющая создавать иммунные библиотеки неканонических однодоменных антител (характеризующихся большим разнообразием и количеством индивидуальных клонов), эффективно проводить селекцию антител с заданной специфичностью, а также обеспечивать конструирование разнообразных модифицированных молекул на их основе для усиления терапевтического потенциала.

Показана возможность получения молекул однодоменных антител, обладающих прямой вируснейтрализующей активностью в отношении вируса Эбола. **Разработан** препарат «ГамЭмаб» для экстренной профилактики и этиотропной терапии болезни, вызванной вирусом лихорадки Эбола. В доклинических и клинических исследованиях Фазы 1 показаны высокая эффективность и безопасность препарата.

Показана способность однодоменных антител, специфических рецептор-связывающему домену (RBD) поверхностного гликопротеина S, подавлять развитие вирусной инфекции *in vitro* и *in vivo*. **Разработан** препарат ГамКовиМаб для терапии заболевания COVID-19. В доклинических исследованиях показана защитная эффективность препарата в отношении различных вариантов вируса SARS-CoV-2. В клинических исследованиях на здоровых добровольцах показана хорошая переносимость и низкая иммуногенность препарата.

Показана возможность получения молекул однодоменных антител и их модификаций, обладающих нейтрализующей активностью в отношении ботулотоксина типа А C.botulinum и токсина Б (TcdB) C.difficile. **Получены** модифицированные молекулы, обладающие высокой терапевтической активностью в качестве средств экстренной терапии интоксикаций на моделях *in vivo* и *in vitro*.

Получены однодоменные антитела, специфические к бактериальным антигенам (на моделях M.hominis, C.difficile). **Проведена** оценка возможности их диагностического использования для обнаружения и идентификации патогенных микроорганизмов различными методами (ИФА, иммуноблоттинг, проточная цитофлуориметрия, иммуноцитохимическое окрашивание, биосенсоры).

Установлено, что разработанные препараты на основе однодоменных антител и их модификаций не обладают токсичностью в доклинических

исследованиях на животных, а также обладают хорошим профилем безопасности в клинических исследованиях с участием добровольцев.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Установлено, что универсальность технологической платформы на основе однодоменных антител, а также простота модификаций молекул антител, направленных на увеличение времени циркуляции антител в организме, усиление нейтрализующей активности, а также расширение спектра активности в отношении различных мишеней, позволяет создавать препараты для эффективной борьбы с инфекционными заболеваниями как вирусной, так и бактериальной природы.

Показано, что проведенные комплексные исследования подтверждают высокую перспективность использования разработанной технологической платформы на основе однодоменных антител для разработки средств экстренной профилактики и этиотропной терапии различных инфекционных заболеваний.

Показано в клинических исследованиях, что однодоменные антитела обладают низкой иммуногенностью (отсутствие образования антител к препарату в течение всего срока наблюдения), длительной фармакокинетикой (за счет применения Fc-фьюжн модификаций), а также благоприятным профилем безопасности.

Установлено, что однодоменные антитела, специфические рецептор-связывающему домену шиповидного белка вируса SARS-CoV-2 обладают высокой нейтрализующей активностью, а также широким спектром нейтрализации различных вариантов вируса SARS-CoV-2, вызывающих опасение по классификации ВОЗ (VOC): альфа, бета, гамма, дельта и омикрон. Показано, что полученные однодоменные антитела можно использовать для получения препарата для экстренной профилактики и этиотропной терапии инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. **Проведены** клинические исследования Фазы II «Открытое исследование безопасности и описания параметров эффективности лекарственного препарата для экстренной профилактики и ранней этиотропной терапии коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, при однократном применении у пациентов с верифицированным диагнозом COVID-19».

Установлено, что моноклональные антитела, специфические белку GP вируса Эбола обладают высокой нейтрализующей активностью и могут быть использованы для разработки средства для экстренной профилактики и терапии болезни, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ). **Проведены** доклинические исследования и клинические исследования 1 фазы «Открытое

исследование безопасности и фармакокинетики лекарственного препарата для экстренной профилактики лихорадки Эбола».

Обнаружено, использование подходов, направленных на модификацию полученных однодоменных антител (димеризация, получение молекул, слитых с Fc-фрагментом иммуноглобулина человека) позволяет значительно повысить терапевтический потенциал мономерных молекул (более чем в 100 раз).

Установлено, что однодоменные антитела, специфические ботулотоксину типа А *C.botulinum* могут быть использованы для разработки средства терапии ботулизма. **Проведены** доклинические исследования эффективности и безопасности препарата для терапии ботулизма на основе оригинальных однодоменных антител.

Показано, что полученные с помощью платформы антитела могут быть использованы для выявления инфекционных агентов. В частности, **установлено**, что оригинальные однодоменные антитела, связывающиеся с CROPS доменом токсина TcdB *C.difficile* можно использовать для разработки биосенсоров для детекции токсина *Clostridioides difficile* методом плазмонного резонанса. **Показана** более высокая стабильность биосенсоров на основе однодоменных антител по сравнению с биосенсором на основе канонических антител за счет более высокой устойчивости к регенерации.

Показана возможность использования метода пассивной иммунизации для получения иммунных библиотек неканонических антител.

Показана возможность амплификации нуклеотидных последовательностей, кодирующих переменные участки неканонических антител альпака с использованием оригинальных праймеров.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждаются тем, что: По результатам исследования был **разработан** препарат «ГамКовиМаб» для экстренной профилактики и этиотропной терапии инфекции, вызванной вирусом SARS-Cov-2. Завершены клинические исследования фазы 1, а также фазы 2 «Открытое исследование безопасности и описания параметров эффективности лекарственного препарата для экстренной профилактики и ранней этиотропной терапии коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, при однократном применении у пациентов с верифицированным диагнозом COVID-19». **Разработаны** препараты ГамЭмаб и ГамЭзумаб для экстренной профилактики и этиотропной терапии лихорадки Эбола. **Завершены** клинические исследования 1 фазы «Открытое исследование безопасности и фармакокинетики лекарственного препарата для экстренной профилактики лихорадки Эбола». **Разработан** препарат для терапии интоксикации

ботулотоксином типа А на основе нейтрализующих однодоменных антител, слитых с Fc-фрагментом иммуноглобулина. **Проведены** доклинические исследования в полном объеме. В рамках выполнения исследования были **созданы и зарегистрированы** две тест-системы: Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-Cov-2 «SARS-Cov-2-RBD-ИФА-Гамалеи», для которого было получено регистрационное удостоверение на медицинское изделие №РЗН 2020/10393; Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-Cov-2 «ГAM-COVID-анти-RBD», для которого было получено регистрационное удостоверение на медицинское изделие №РЗН 2021/14488. В результате проведенного исследования также была **создана** тест-система «ОДНОДОМЕН-БИО» для индикации и идентификации патогенных биологических агентов на основе панели однодоменных антител на основе панели однодоменных антител, которая предназначена для специфической индикации и идентификации патогенных биологических агентов II–IV групп: 3 патогенов бактериальной природы (*Clostridioides difficile*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*) и 1 патогена вирусной природы (вируса бешенства) методом плазмонного резонанса. На тест-систему разработана техническая документация и успешно проведены технические испытания.

При разработке технологической платформы однодоменных антител и изучении возможности ее использования для создания средств диагностики и терапии инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител и молекул на их основе были **получены** 9 патентов на изобретения (представлены в списке работ, опубликованных по теме диссертации).

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертации внедрены в учебный процесс в составе лекционных курсов «Основы молекулярной биотехнологии» и «Конструирование лекарственных и диагностических препаратов» кафедры биотехнологии и промышленной фармации ИТХТ им. М.В. Ломоносова, федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет». Также, теоретические и практические результаты, полученные в ходе выполнения работы были внедрены в учебный процесс подготовки научных и научно-педагогических кадров кафедры инфектологии и вирусологии Института профессионального образования Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

Объем проведенных исследований соответствует критериям, предъявляемым к докторским диссертациям;

в работе использованы корректные контроли и методы статистической обработки экспериментальных данных. Использованные статистические методы адекватны поставленным задачам. Проверка статистических гипотез осуществлялась при 95%-ом уровне значимости ($p \leq 0,05$), используемом при проведении иммунологических и биотехнологических исследованиях;

использован полный объем литературных данных по рассматриваемой тематике;

установлено качественное и количественное совпадение результатов исследования;

Представлено обсуждение результатов с использованием актуальных исследований в области изучения неканонических антител и их применения в терапии различных заболеваний. Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, обоснованы и подтверждены фактическим материалом.

Использован полный объем литературных данных по рассматриваемой тематике;

Личный вклад соискателя состоит в анализе данных литературы, планировании и проведении экспериментов, анализе полученных данных, подготовке к печати публикаций и написании диссертации. Основные результаты диссертационной работы получены лично автором или при его непосредственном участии. Автором были разработаны основные экспериментальные подходы, лежащие в основе технологической платформы, позволяющей получать однодоменные антитела заданной специфичности из иммунных библиотек верблюдовых. Автор отработал наиболее эффективные схемы иммунизации верблюдовых (альпака, двугорбый верблюд) с использованием как рекомбинантных белков, так и рекомбинантных аденовирусных векторов, несущих гены целевого белка мишени и их комбинаций, позволяющих получать иммунные библиотеки неканонических однодоменных антител, характеризующихся большим разнообразием индивидуальных клонов. Автор непосредственно отработал условия проведения селекции однодоменных антител методом фагового дисплея с применением различных фагов-помощников и способов проведения элюции, позволяющих минимизировать содержание неспецифических фагов в библиотеке. Автор применил подход к проведению скрининга специфических однодоменных антител, включающий выполнение двухэтапного анализа способности клонов связываться с белком мишенью в формате фаговых частиц и лизата клеток продуцентов *E.coli*, позволяющий минимизировать

возможность получения ложно-положительных результатов. Автором были отработаны условия продукции и очитки препаратов однодоменных антител, позволяющие проводить быструю оценку специфической активности антител. Автором получен препарат, содержащий липид-ассоциированные мембранные белки (ЛАМБ) *M.hominis*, используемый в качестве мишени для отбора однодоменных антител. Автор разработал ТУ, эскизный и технические проекты тест-системы «ОДНОДОМЕН-БИО» для индикации и идентификации патогенных биологических агентов на основе панели однодоменных антител, а также провел валидационные, технические и клинические испытания зарегистрированных наборов реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-Cov-2 «SARS-Cov-2-RBD-ИФА-Гамалеи» №РЗН 2020/10393 и №РЗН 2021/14488. Все этапы диссертационного исследования выполнены автором лично, кроме конкретных результатов, полученных совместно с коллегами, что отражено в совместных публикациях научных статей. Конструирование рекомбинантных вирусов на основе аденовируса человека 5 серотипа, а также вируса везикулярного стоматита rVSV и были выполнены совместно с к.б.н. Зубковой О.В. (лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, зав. лабораторией Щебляков Д.В.). Проведение трансфекции, а также очистка рекомбинантных белков (белок GP вируса Эбола, рецептор-связывающий домен вируса SARS-Cov-2) выполнены совместно с к.б.н. Есмагамбетова И.Б. (лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, зав. лабораторией Щебляков Д.В.). Работа с вирусом SARS-Cov-2 (определение вирус-нейтрализующей активности антител на культуре клеток, а также проведение экспериментов с летальной инфекцией на мышах) выполнены в лаборатории Государственной коллекции вирусов (под руководством к.б.н. Должиковой И.В.). Работа с вирусом Эбола проводилась в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России под руководством академика РАН Борисевича С.В. Получение CROPS домена токсина TcdB *C.difficile* проводилось в лаборатории молекулярных основ патогенности под руководством д.б.н. Белого Ю.Ф. Получение и инаktivация ботулотоксина типа А проводилась под руководством д.б.н. Носкова А.Н. (группа клостридиозов лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, зав. лабораторией Щебляков Д.В.). Получение препаратов антител для проведения доклинических и клинических исследований было выполнено совместно с Карповым А.П. (Филиал «Медгамал» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России).

Планирование и проведение клинических исследований было выполнено совместно с Лубенец Н.Л.

Автором лично проведены статистическая обработка результатов исследований, их аналитическая оценка и рецензирование. Публикации подготовлены автором лично или при непосредственном участии по материалам собственных исследований. Диссертация и автореферат написаны лично автором.

Результаты диссертации предназначены для применения в биологических, медицинских, клинических и научно-исследовательских учреждениях могут быть использованы при разработке средств терапии инфекционных заболеваний на основе нейтрализующих однодоменных антител (экстренная профилактика и терапия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ), коронавирусом SARS-Cov-2, ботулотоксином типа А, токсином В *C.difficile* и других), а также диагностического использования для обнаружения и идентификации патогенных микроорганизмов различными методами (ИФА, иммуноблоттинг, проточная цитофлуориметрия, иммуноцитохимическое окрашивание, биосенсоры).

Заключение

Таким образом, диссертационная работа **Щеблякова Дмитрия Викторовича** на тему «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) является законченной научно-квалификационной работой, в которой решены актуальные проблемы иммунологии и биотехнологии: на основании выполненных исследований, был разработан комплекс методических подходов (технологическая платформа), позволяющих создавать и тестировать препараты на основе однодоменных антител, направленных на борьбу с инфекционными заболеваниями человека. На примере 5 различных инфекционных агентов была показана эффективность платформы для решения задач диагностики и терапии инфекционных заболеваний.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Щеблякова Дмитрия Викторовича на тему «Разработка универсальной технологической платформы для создания средств терапии и диагностики инфекционных заболеваний на основе однодоменных антител» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9-14 «Положение о присуждении

ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от (N 415 от 18.03.2023, N 1786 от 26.10.2023, N 62 от 25.01.2024 и N 1382 от 16.10.2024), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Щебляков Дмитрий Викторович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки).

На заседании 28 марта 2025 года диссертационный совет принял решение **присудить** Щеблякову Дмитрию Викторовичу ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, в том числе 5 докторов наук по специальности 3.2.7 Иммунология, 4 докторов наук по специальности 1.5.6. Биотехнология, 6 докторов наук по специальности 1.5.11 Микробиология, 2 кандидата наук по специальности 3.2.7 Иммунология, 1 кандидат наук по специальности 1.5.11 Микробиология, участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 18 , против - 0 , недействительных бюллетеней - 0.

Зам. председателя
диссертационного совета
21.1.018.03
доктор биологических наук, профессор



А.В. Пронин

Учёный секретарь
диссертационного совета
21.1.018.03
доктор биологических наук

С. А. Ермолаева

«28» марта 2025 г.