

Заключение диссертационного совета МГУ.03.01
по диссертации на соискание ученой степени доктора наук

Решение диссертационного совета от «12» декабря 2019 г. № 14

О присуждении Никитину Николаю Александровичу, гражданину РФ, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Рибонуклеопротеиды и структурно-модифицированные частицы вирусов растений: строение и свойства» по специальности 03.02.02 – «Вирусология» принята к защите диссертационным советом 26.09.2019, протокол № 9.

Соискатель Никитин Николай Александрович 1983 года рождения, в 2005 году окончил химический факультет ФГБУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «Химия». С 2005 по 2008 г. соискатель обучался в очной аспирантуре факультета биоинженерии и биоинформатики ФГБУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «Вирусология». В 2008 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Изучение структуры транспортного вирусного рибонуклеопротеида Х вируса картофеля и способов трансляционной активации РНК в его составе» по специальности 03.00.06 - «Вирусология» в диссертационном совете Д 501.001.76 при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. С 2008 года по настоящее время работает на кафедре вирусологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, с 2014 года в должности заведующего сектором.

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

Научный консультант - доктор биологических наук **Карпова Ольга Вячеславовна**, заведующий кафедрой вирусологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Официальные оппоненты:

Завриев Сергей Кириакович, доктор биологических наук, профессор, член-корр. РАН, руководитель отдела молекулярной биологии и биотехнологии растений, заведующий лабораторией молекулярной диагностики ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН;

Равин Николай Викторович, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом молекулярной биологии микроорганизмов, заведующий лабораторией систем молекулярного клонирования Института биоинженерии, заместитель директора по научной работе ФИЦ

«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН;

Замятнин Андрей Александрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной биологии и биохимии, директор Института молекулярной медицины ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 77 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 39 работ, из них 25 статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 03.02.02 – вирусология:

1. Карпова О.В., Архипенко М.В., Заякина О.В., **Никитин Н.А.**, Киселева О.И., Козловский С.В., Родионова Н.П., Атабеков И.Г. Регуляция трансляции РНК в комплексах с белком оболочки Х-вируса картофеля: ключевая роль N-концевого пептида белка // Молекулярная биология. 2006. Т. 40 (4). С. 703-710. ИФ₂₀₁₇ 0.977.
2. Zayakina O., Arkhipenko M., Kozlovsky S., **Nikitin N.**, Smirnov A., Susi P., Rodionova N., Karpova O., Atabekov J. Mutagenic analysis of Potato Virus X movement protein (TGBp1) and the coat protein (CP): in vitro TGBp1–CP binding and viral RNA translation activation // Molecular Plant Pathology. 2008. V. 9(1). P. 37-44. IF₂₀₁₈ 4.379.
3. **Никитин Н.**, Сушко А., Карпова О., Яминский И. Структура и свойства наноконплекса "ДНК - белок оболочки фитовируса" // Наноиндустрия. 2009. Т. 6. С. 16-17. ИФ₂₀₁₇ 0.423.
4. Atabekov J., **Nikitin N.**, Arkhipenko M., Chirkov S., Karpova O. (2011) Thermal transition of native tobacco mosaic virus and RNA-free viral proteins into spherical nanoparticles // Journal of General Virology. 2011. V. 92 (Pt. 2). P. 453–456. IF₂₀₁₈ 2.809.
5. **Никитин Н.А.**, Сушко А.Д., Архипенко М.В., Родионова Н.П., Карпова О.В., Яминский И.В. Сравнение структуры и свойств нуклеопротеидов, полученных с использованием белка оболочки фитовируса // Коллоидный журнал. 2011. Т. 73 (4). С. 512–519. ИФ₂₀₁₇ 1.172.
6. **Никитин Н.А.**, Малинин А.С., Рахнянская А.А., Трифонова Е.А., Карпова О.В., Ярославов А.А., Атабеков И.Г. Использование поликатионного спейсера для нековалентной иммобилизации альбумина на термически модифицированных вирусных частицах // Высокомолекулярные соединения. Серия А. 2011. Т. 53 (11). С. 1885-1891. ИФ₂₀₁₇ 0.984.
7. Архипенко М.В., Петрова Е.К., **Никитин Н.А.**, Сушко А.Д., Дубровин Е.В., Яминский И.В., Родионова Н.П., Карпова О.В., Атабеков И.Г. Искусственные

вирусоподобные частицы, полученные in vitro из белка X-вируса картофеля и чужеродных вирусных РНК // Acta naturae. 2011. Т. 3 (3). С. 42-48. IF₂₀₁₈ 1.657.

8. Karpova O., **Nikitin N.**, Chirkov S., Trifonova E., Sheveleva A., Lazareva E., Atabekov J. Immunogenic compositions assembled from tobacco mosaic virus-generated spherical particle platforms and foreign antigens // Journal of General Virology. 2012. V. 93 (Pt. 2). P. 400-407. IF₂₀₁₈ 2.809.
9. Dobrov E., **Nikitin N.**, Trifonova E., Parshina E., Makarov V., Maksimov G., Karpova O., Atabekov J. β -structure of the coat protein subunits in spherical particles generated by tobacco mosaic virus thermal denaturation // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. 2014. V. 32 (5). P. 701-708. IF₂₀₁₈ 3.31.
10. **Nikitin N.**, Trifonova E., Karpova O., Atabekov J. Examination of biologically active nanocomplexes by Nanoparticle Tracking Analysis // Microscopy and Microanalysis. 2013. V. 19 (4). P. 808-813. IF₂₀₁₈ 2.673.
11. Trifonova E., **Nikitin N.**, Gmyl A., Lazareva E., Karpova O., Atabekov J. Complexes assembled from TMV-derived spherical particles and entire virions of heterogeneous nature // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. 2014. V. 32 (8). P. 1193-1201. IF₂₀₁₈ 3.31.
12. Petrova E.K., **Nikitin N.A.**, Protopopova A.D., Arkhipenko M.V., Yaminsky I.V., Karpova O.V., Atabekov J.G. The role of the 5'-cap structure in viral ribonucleoproteins assembly from Potato Virus X coat protein and RNAs // Biochimie. 2013. V. 95 (12). P. 2415-2422. IF₂₀₁₈ 3.362.
13. **Nikitin N.**, Malinin A., Trifonova E., Rakhnyanskaya A., Yaroslavov A., Karpova O., Atabekov J. Proteins immobilization on the surface of modified plant viral particles coated with hydrophobic polycations // Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. 2014. V. 25 (16). P. 1743-1754. IF₂₀₁₈ 2.121.
14. **Никитин Н.**, Трифонова Е., Петрова Е., Борисова О., Карпова О., Атабеков И. Изучение первых стадий сборки вириона у X-вируса картофеля // Сельскохозяйственная биология. 2014. Т. 5. С. 28-34. ИФ₂₀₁₇ 0.860.
15. Petrova E.K., **Nikitin N.A.**, Trifonova E.A., Protopopova A.D., Karpova O.V., Atabekov J.G. The 5'-proximal region of Potato virus X RNA involves the potential cap-dependent "conformational element" for encapsidation // Biochimie. 2015. V. 115. P. 116-119. IF₂₀₁₈ 3.362.
16. **Nikitin N.**, Trifonova E., Evtushenko E., Kirpichnikov M., Atabekov J., Karpova O. Comparative study of non-enveloped icosahedral viruses size // PLoS One. 2015. V. 10 (11). e0142415. IF₂₀₁₈ 2.776.
17. Атабеков И.Г., **Никитин Н.А.**, Карпова О.В. Новый тип платформ для сборки вакцин in vitro // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2015. Т. 4. С. 29-35. ИФ₂₀₁₇ 0.620.

18. Трифонова Е.А., **Никитин Н.А.**, Кирпичников М.П., Карпова О.В., Атабеков И.Г. Способ получения и характеристика сферических частиц - новых биогенных платформ // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2015. Т. 4. С. 46-50. ИФ₂₀₁₇ 0.620.
19. Петрова Е.К., Трифонова Е.А., **Никитин Н.А.**, Кондакова О.А., Атабеков И.Г., Карпова О.В. Изучение сигнала сборки вирусных рибонуклеопротеидов у потексвирусов // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2016. Т. 1. С. 52-56. ИФ₂₀₁₇ 0.620.
20. **Nikitin N.**, Ksenofontov A., Trifonova E., Arkhipenko M., Petrova E., Kondakova O., Kirpichnikov M., Atabekov J., Dobrov E., Karpova O. Thermal conversion of filamentous potato virus X into spherical particles with different properties from virions // FEBS Letters. 2016. V. 590 (10). P. 1543-1551. ИФ₂₀₁₈ 2.675.
21. **Никитин Н.А.**, Трифонова Е.А., Карпова О.В., Атабеков И.Г. Биобезопасность вирусов растений для человека и животных // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2016. Т. 3. С. 20-26. ИФ₂₀₁₇ 0.620.
22. Трифонова Е.А., **Никитин Н.А.**, Архипенко М.В., Донченко Е.К., Атабеков И.Г., Карпова О.В. Сравнительное изучение термической перестройки вирусов с икосаэдрическим и спиральным типом симметрии // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2017. Т. 72 (4). С. 209-214. ИФ₂₀₁₇ 0.620.
23. Архипенко М.В., **Никитин Н.А.**, Донченко Е.К., Карпова О.В., Атабеков И.Г. Трансляционная кросс-активация геномных РНК потексвирусов в составе вирионов // Acta Naturae. 2017. Т. 9 (4). С. 23-28. ИФ₂₀₁₈ 1.657.
24. Donchenko E., Trifonova E., **Nikitin N.**, Atabekov J., Karpova O. Alternanthera mosaic potexvirus: Several Features, Properties, and Application // Advances in virology. 2018. V. 2018. 1973705. CiteScore₂₀₁₈ 2.0.
25. Ksenofontov A.L., Fedorova N.V., Badun G.A., Serebryakova M.V., **Nikitin N.A.**, Evtushenko E.A., Chernysheva M.G., Bogacheva E.N., Dobrov E.N., Baratova L.A., Atabekov J.G., Karpova O.V. Surface characterization of the thermal remodeling helical plant virus // PLoS One. 2019. V. 14 (5). e0216905. ИФ₂₀₁₈ 2.776.

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные, замечания носят редакционный характер.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их высокой компетентностью в области вирусологии и молекулярной биологии, связанной с изучением структуры и свойств вирусов растений, и наличием публикаций в данной сфере исследований.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук является научно-квалификационной

работой, соответствующей критериям п. 2.1 Положения о присуждении ученых степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова.

В данной работе впервые была изучена структура и свойства вероятной транспортной формы потексвирусов, вирусного рибонуклеопротеида (вРНП), состоящего из РНК, белка оболочки и транспортного белка 1 Х-вируса картофеля (ХВК). Впервые было показано, что подобные вРНП имеют структуру и трансляционные свойства аналогичные вирионам. Также обнаружен вероятный сигнал начала сборки ХВК. Полученные результаты вносят вклад в современное представление о процессе сборки вирионов и вРНП поскольку специфический сигнал сборки вирионов из РНК и белков оболочки до сих пор не охарактеризован для большинства вирусов растений.

Кроме того, в диссертационной работе Н.А.Никитина были впервые изучены структура и свойства структурно-модифицированных частиц, полученных при термической перестройке вирусов растений. Показана возможность получения структурно-модифицированных частиц сферической формы, контролируемого размера, стабильных, биodeградируемых, с уникальными адсорбционными свойствами. На основе СЧ были созданы комплексы с белками различной природы, в том числе антигенами ряда патогенов млекопитающих, которые могут стать основой для создания функционально активных биологических частиц, в том числе кандидатных вакцин нового типа.

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. В результате инкубации РНК, БО и ТБ1 ХВК *in vitro* происходит сборка вирусных рибонуклеопротеидов (вРНП), представляющих собой РНК, частично одетую в БО, собранный в спиральную структуру (головку) вокруг 5'- конца РНК («однохвостые» частицы»). При этом молекулы ТБ1 связываются с торцом спиральной «головки» вРНП.
2. РНК ХВК в составе вРНП недоступна для рибосом, но приобретает способность транслироваться в результате фосфорилирования БО в составе вРНП или образования комплекса вРНП с ТБ1.
3. Кэп-структура РНК не является сигналом инициации сборки, но влияет на эффективность взаимодействия РНК с БО потексвирусов *in vitro* и образование вРНП.
4. Термическая обработка вирионов ВТМ приводит к образованию структурно-модифицированных частиц сферической формы (СЧ) контролируемого размера.
5. В процессе термической перестройки белок оболочки ВТМ претерпевает значительные структурные изменения, в результате чего поверхность структурно-модифицированных

частиц оказывается представлена аминокислотными остатками, отличными от экспонированных в вирионе.

На заседании 12.12.2019 диссертационный совет принял решение присудить Никитину Николаю Александровичу ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 7 докторов наук по специальности «вирусология», участвовавших в заседании, из 13 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 13, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета, д.б.н.

Ученый секретарь
диссертационного совета, д.б.н.

12.12.2019



Аграновский А.А.

Комарова Т.В.

✓