

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.228.03  
(Д 003.075.04), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КРАСНОЯРСКИЙ  
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН),  
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 10.02.2026 № 3

О присуждении Кудрявцеву Александру Николаевичу, гражданину Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Генетически модифицированные целентеразин-зависимые люциферазы в иммуноанализе вируса клещевого энцефалита» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите 02.12.2025 (протокол заседания № 4) диссертационным советом 24.1.228.03 (Д 003.075.04), созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), Министерство науки и высшего образования РФ, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, д. 50, создан приказом Минобрнауки № 21/нк от 24.01.2017.

Соискатель Кудрявцев Александр Николаевич 22.09.1986 года рождения, в 2011 году окончил магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ), Министерство образования и науки РФ, по направлению подготовки «Биология»,

присуждена степень Магистра, в 2014 году окончил аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИБФ СО РАН), ФАНО, по специальности 03.01.06 «Биотехнология» (в том числе бионанотехнологии), в 2025 году был прикреплен к Федеральному государственному бюджетному научному учреждению «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), Министерство науки и высшего образования РФ, для сдачи кандидатских экзаменов по научной специальности 1.5.6 – Биотехнология, отрасль наук – биологические науки,

работает младшим научным сотрудником лаборатории биолюминесцентных и экологических технологий Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИБФ СО РАН) – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), Министерство науки и высшего образования РФ.

Диссертация выполнена в лаборатории биолюминесцентных и экологических технологий Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИБФ СО РАН) – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), Министерство науки и высшего образования РФ.

Научный руководитель – доктор биологических наук, Франк Людмила Алексеевна, Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИБФ СО РАН) – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского

отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), лаборатория биолюминесцентных и экологических технологий, главный научный сотрудник, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ), базовая кафедра биотехнологии, профессор.

Официальные оппоненты:

Генералов Владимир Михайлович, доктор технических наук, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора), отдел биофизики и экологических исследований, ведущий научный сотрудник;

Матвеев Андрей Леонидович, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), лаборатория противомикробных препаратов, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова), г. Москва, в своём положительном отзыве, подписанном Угаровой Натальей Николаевной, доктор химических наук, кафедра химической энзимологии Химического факультета, главный научный сотрудник, указала, что диссертация соискателя является научно-квалификационной работой, содержащей решение задачи по созданию систем биолюминесцентного иммуноанализа вируса клещевого энцефалита в клещах с использованием преимуществ репортеров на основе ряда генетически модифицированных целентеразин-зависимых люцифераз, которые могут быть использованы для создания отечественных высокоэффективных и чувствительных диагностикумов для выявления ВКЭ,

что имеет важное значение для соответствующей области знаний, и соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Правительством Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения ему искомой степени.

Соискатель имеет 43 опубликованных работы, в том числе по теме диссертации опубликованы 19 работ, из них в рецензируемых научных изданиях, входящих в базы цитирований Scopus, Web of Science, опубликовано 7 работ, зарегистрировано 4 патента РФ, а также 8 публикаций в сборниках докладов научных конференций. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах, объём научных изданий (статей) составляет 151 стр., авторский вклад – 70%.

Наиболее значимые публикации:

1. L.P. Burakova, **A.N. Kudryavtsev**, G.A. Stepanyuk, I.K. Baykov, V.V. Morozova, N.V. Tikunova, M.A. Dubova, V.N. Lyapustin, V.V. Yakimenko, L.A. Frank. Bioluminescent detection probe for tick-borne encephalitis virus immunoassay. Anal. Bioanal. Chem., 2015 407:5417–5423 10.1007/s00216-015-8710-6 (Scopus, WoS, Белый список K1, IF 3.8. Q1).
2. **A.N. Kudryavtsev**, L. P. Burakova and L. A. Frank Bioluminescent detection of tick-borne encephalitis virus in native ticks. Anal. Methods, 2017, 9, 2252 DOI: 10.1039/C7AY00535K (Scopus, WoS, Белый список K1, IF 2.6. Q2).
3. L.A. Frank, E.E. Bashmakova, V.V. Krasitskaya, **A.N. Kudryavtsev**. Genetically modified coelenterazine-dependent luciferases as reporters for in vitro assay. Журн. Сиб. федер. ун-та. Серия: Биология, 2017, Т. 10(2), С. 199 – 210. DOI: 10.17516/1997-1389-0023 (Scopus, Белый список K1, ВАК, IF 0,5. Q4).
4. **А.Н. Кудрявцев**, Л.П. Буракова, К.А. Баринова, Л.А. Франк. Тест-система для выявления вируса клещевого энцефалита билюминесцентным

- иммуноанализом. Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2020. 13(3). С. 310–321. DOI: 10.17516/1997-1389-0296 (Scopus, Белый список K1, ВАК, IF 0,5. Q4).
5. Е.Е. Башмакова, **А.Н. Кудрявцев**, Л.А. Франк Разработка способа получения функционально активного рекомбинантного стрептавидина в клетках *Escherichia coli*. Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2020. 13(2). С. 218-229. DOI: 10.17516/1997-1389-0324 (Scopus, Белый список K1, ВАК, IF 0,5. Q4).
6. **Kudryavtsev A.N.**, Krasitskaya V.V., Efremov M.K., Zangeeva S.V., Rogova A.V., Tomilin F.N., Frank L.A. Ca<sup>2+</sup>-triggered coelenterazine-binding protein Renilla: expected and unexpected features. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 2144. (Scopus, WoS, Белый список K1, IF 4.9. Q1).
7. **A.N. Kudryavtsev**, Е.Е. Denisova, V.V. Krasitskaya, I.K. Baykov, N.V. Tikunova, L.A. Frank. Designing the homogeneous competitive bioluminescence-based assay for tick-borne encephalitis virus (TBEV) point-of-care detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2025, 417: 5931-5939, (Scopus, WoS, Белый список K1, IF 4.9. Q1).
8. Л.А. Франк, Н.В. Тикунова, Л.П. Буракова, И.К. Байков, **А.Н. Кудрявцев**, Морозова В.В. Рекомбинантная плазмидная ДНК pFLAG-sc14D5a-Rm7, обеспечивающая синтез гибридного белка sc14D5a-Rm7, штамм бактерий *Escherichia coli* - продуцент гибридного белка sc14D5a-Rm7 и гибридный белок sc14D5a-Rm7, связывающий белок E вируса клещевого энцефалита и обладающий биолюминесцентной активностью. Патент РФ № 2 565 545 С1 Опубликовано: 20.10.2015 Бюл. № 29.
9. Е.Е. Башмакова, **А.Н. Кудрявцев**, Л.А. Франк. Рекомбинантная плазмидная ДНК pET19b-SAV, обеспечивающая синтез полноразмерного белка стрептавидина *Streptomyces avidinii*, штамм бактерий *Escherichia coli* – продуцент растворимого полноразмерного белка стрептавидина *Streptomyces avidinii*. Патент РФ №2728652. Опубликовано 30.07.2020. Бюл. № 22
10. Е.Е. Башмакова, **А.Н. Кудрявцев**, Л.А. Франк. Рекомбинантные плазмидные днк pFLAG-sc14d5a-NLuc-r1 и pFLAG-NLuc-r2-sc14d5a, обеспечивающие синтез гибридных белков sc14d5a-NLuc-r1 и NLuc-r2-sc14d5a, и гибридные белки sc14d5a-NLuc-r1 и NLuc-r2-sc14d5a,

связывающие белок E вируса клещевого энцефалита с комплементацией фрагментов NLuc-r1 и NLuc-r2 и появлением биолюминесцентной активности. Патент РФ № 2784817. Опубликовано 29.11.2022. Бюл. № 34

11. **А.Н. Кудрявцев**, Е.Е. Денисова, И.К. Байков, Н.В. Тикунова, Л.А. Франк. Рекомбинантные плазмидные ДНК pFLAG-sc14D5a-NLuc-r2 и pFLAG-rED3-NLuc-r1, обеспечивающие синтез гибридных белков sc14D5a-NLuc-r2 и rED3-NLuc-r1, и гибридные белки sc14D5a-NLuc-r2 и rED3-NLuc-r1, образующие специфические комплексы антиген-антитело с комплементацией фрагментов NLuc-r1 и NLuc-r2 и появлением биолюминесцентной активности, способ выявления белка E вируса клещевого энцефалита на их основе. Патент РФ № 2844 579. Опубликовано 04.08.2025. Бюл. № 22

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва. Все отзывы положительные. Отзыв доктора биологических наук, профессора Гаевского Н.А., профессора кафедры водных и наземных экосистем Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ), замечаний и вопросов не содержит. В отзыве доктора биологических наук Кичкайло А.С., ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией цифровых управляемых лекарств и тераностики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), содержатся следующие вопросы: «1. Каковы предполагаемые сроки стабильности и рабочие характеристики лиофилизированного реагента при хранении в полевых условиях (например, при повышенных температурах)? 2. Рассматривалась ли автором возможность адаптации разработанной платформы однофазного анализа на основе комплементации фрагментов NLuc для детекции других клинически значимых патогенов или биомаркеров?» В отзыве кандидата химических наук Воробьевой М.А., старшего научного сотрудника лаборатории химии

РНК Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), имеется замечание: «В таблице 1 с кинетическими параметрами билюминесцентной реакции не приведены размерности констант и скорости реакции». В отзыве доктора химических наук, профессора Ямпольского И.В., заместителя директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), содержатся вопросы: «1. Описанные диагностикумы разрабатывали по чьему-то заказу или инициативно? 2. В связи с актуальностью проведенных исследований закономерно спросить – планируется ли внедрение этой разработки?»

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью и высокой квалификацией специалистов в области билюминесценции, в разработке биосенсоров и тест-систем, получении антител к биологическим мишеням, а также соответствием основных направлений исследований задачам диссертационной работы Кудрявцева А.Н. Научный коллектив кафедры химической энзимологии Химического факультета МГУ занимается исследованием билюминесценции люциферазы светляков, развитием новых технологий применения люцифераз в иммуноанализе и изучении процессов внутри клетки с помощью люцифераз, и имеет высокую квалификацию по теме диссертации, что подтверждается научными публикациями. Доктор технических наук Генералов В.М. (р.п. Кольцово, Новосибирская область) является специалистом в области создания новых методов тестирования вирусов и разработке новых биосенсоров для биомедицины и вирусологии, тем самым область его компетенции существенно перекликается с 3 главой диссертации Кудрявцева А.Н. Кандидат биологических наук Матвеев А.Л. (г. Новосибирск) является старшим научным сотрудником и заведующим

лабораторией противомикробных препаратов, его публикации связаны получением и характеристикой антител к вирусам, изучением различных эпитопов вирусных частиц, что также в значительной степени перекликается с основной тематикой работы Кудрявцева А.Н.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработаны** новая экспериментальная методика выявления вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) твердофазным иммуноанализом с использованием билюминесцентных репортеров, и вариант однофазного иммуноанализа конкурентного типа, позволяющие проводить анализ клещей в санитарно-эпидемиологических лабораториях и во внелабораторных условиях;

**предложены:** новый подход выявления ВКЭ на основе комплементации фрагментов искусственной люциферазы NLuc с восстановлением билюминесценции и лиофилизированный реагент «всё в одном» для выявления вируса в исследуемом образце;

**доказана** перспективность применения разработанных способов для выявления ВКЭ в лабораторных и полевых условиях.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**доказано,** что полученные гибридные белки обладают субстрат-зависимой билюминесценцией интактных люцифераз и аффинностью входящих в их состав биоспецифических фрагментов антитела либо антигена; биоспецифические комплексы на основе фрагментов люциферазы NLuc разрушаются в присутствии ВКЭ, создавая основу для его выявления конкурентным билюминесцентным анализом;

**изложены:** сведения о биохимических и биофизических свойствах новых гибридных белков, условия проведения твердофазного и гомогенного иммуноанализа ВКЭ в клещах, доказательства перспективности применения разработанных аналитических систем;

**раскрыты** новые возможности применения биолюминесценции для разработки тест-систем, быстрого и чувствительного выявления инфекционных агентов;

**изучены:** основные физико-химические свойства полученных гибридных белков; условия эффективной комплементации фрагментов люциферазы NLuc со специфическими фрагментами, входящими в состав гибридных белков; условия хранения гибридных белков и их смесей с субстратом, позволяющие сохранить работоспособность реагентов для однофазного выявления ВКЭ.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**разработаны:** эффективные способы получения бифункциональных гибридных белков; дизайн методик выявления ВКЭ в клещах на основе биолюминесцентных репортеров; условия сборки реагентов для однофазного выявления ВКЭ, обеспечивающие их стабильность при лиофилизации;

**определены:** дискриминационные факторы и условия анализа ВКЭ в пробе твёрдофазным и гомогенным биолюминесцентным иммуноанализом;

**представлены** рекомендации по хранению набора реагентов в лиофилизированном виде, готового к применению для анализа.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**для экспериментальных работ** данные получены с помощью современного оборудования, их достоверность подтверждается воспроизводимостью в серии независимых экспериментов и статистической обработкой;

**теория** эксперимента построена на известных проверяемых данных, выявленные факты согласуются с опубликованными данными по теме диссертации;

**идея базируется** на обобщении передового опыта мирового научного сообщества в области создания реагентов для выявления биологических мишеней;

**использовано** сравнение авторских данных с результатами, полученными ранее по рассматриваемой тематике;

**установлено** качественное совпадение полученных автором результатов биолюминесцентного иммуноанализа ВКЭ в клещах с результатами сертифицированного иммуноферментного анализа колориметрическим методом;

**использованы** современные методики сбора и обработки исходной информации.

**Личный вклад соискателя состоит в:** постановке цели и задач исследования, планировании и проведении экспериментов, обобщении и анализе полученных данных, презентации результатов исследования на научных конференциях и подготовке публикаций.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний, относящихся к сути диссертации, однако был задан ряд вопросов: о применимости терминов «здоровый» и «природный» клещ; почему чувствительность 100%, если с увеличением титра анализ в какой-то момент перестает отличать инфицированного от «здорового»; чем могут быть опасны ложноположительные данные анализа; какова частота мутаций анализируемого белка этого вируса; почему не внедряются биолюминесцентные технологии анализа различных мишеней; планируется ли внедрение; чем отличаются и в чем преимущества вашего метода по сравнению с используемыми; влияет ли то, что антитело было отобрано на дальневосточный субтип, а анализируются преимущественно сибирский; как быстро можно изготовить биотест на новый субтип; какая научная новизна; можно ли перенести биотест для выявления ВКЭ в образцах человека; какие требования к люминометрам для этих анализов; здесь на кривых приведены доверительные интервалы, с чем связаны величины ошибок при измерении.

Соискатель Кудрявцев А.Н. согласился с замечаниями и ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы, в частности: под природными мы имели в виду клещей, взятых из дикой местности, а не специально

выведенных и заражённых в лаборатории; под «здоровым» клещом мы имели в виду отсутствие у него вируса ВКЭ; 100% является диагностическая чувствительность, то есть сходимость результатов с другим эталонным анализом; ложноположительный результат может привести к приёму лекарственных препаратов и, как следствие, возможной аллергии; имеются разные субтипы вируса, следовательно, возможность мутаций белка есть, но я не обладаю сведениями о их частоте для данного вируса; пока есть альтернативы – все будут пользоваться классическим определением, внедрение произойдет когда накопится большое количество уникальных анализов, основанных на биолюминесценции для уникальных мишеней, плюс нужны доступные сертифицированные приборы; пока над внедрением не задумываемся, это достаточно сложный процесс, преимущество в скорости – наш тест занимает 30 минут, а колориметрический – около 4 часов; финансовую составляющую не оценивали, т.к. все белки получены в лабораторных условиях, а при масштабировании тест должен сильно удешевиться; анализ применим к разным субтипам вируса, но константы связывания для разных субтипов отличаются на порядок, хотя и позволяют выявлять ВКЭ; если будут предоставлены миниантитела на новый вариант вируса, создание теста займет от одной до 2-3 недель в зависимости от того на сколько быстро сделают сиквенсы; по большей части это прикладная работа, и она связана с практическим применением; получили новые белки изучили их свойства, посмотрели как они в теории должны сходиться и как получилось на практике, нам даже пришлось отказаться от прямого определения и перейти к конкурентному; мы не проверяли это антитело для человеческих жидкостей, в них слишком низкие значения количества вируса, например, в той же крови, поэтому он не применим; люминометры даже со средней чувствительностью подходят для измерений, всё зависит от того, есть ли у метки в анализе достаточно высокий квантовый выход; приведено среднее для трёх измерений с разбросами как стандартное отклонение, но эти

стандартные отклонения получились слишком малыми, и на графиках эти значения не видны.

На заседании **10 февраля 2026** года диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи по созданию новых высокочувствительных и быстрых способов выявления вируса клещевого энцефалита на основе биолюминесцентных репортеров – гибридных производных целентеразин-зависимых люцифераз, имеющей существенное значение для развития биотехнологической основы современной диагностики инфекционных агентов, присудить **Кудрявцеву А.Н.** учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования с использованием информационно-коммуникационных технологий диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 7 докторов наук по специальности 1.5.6. Биотехнология отрасли биологические науки, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – **18**, против – **0**.

Заместитель председателя  
диссертационного совета,

д.б.н., с.н.с.



Болсуновский Александр Яковлевич

Учёный секретарь  
диссертационного совета,

к.б.н.



Дементьев Дмитрий Владимирович

12.02.2026