

ОТЗЫВ

Официального оппонента
на диссертационную работу Овчинниковой Лейлы Александровны
“Структурно-функциональный анализ В-клеточного репертуара при рассеянном склерозе”,
представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология

Актуальность темы диссертационной работы. Заболевания центральной нервной системы до сих пор являются одной из самых сложных проблем современной медицины, поскольку возможности лечения пациентов с такими заболеваниями существенно ограничены. В случае рассеянного склероза (РС) отсутствует точное понимание этиологии этого заболевания, которая вероятно является многофакторной, имеются недостаточно данных о молекулярных патогенетических механизмах развития РС. Вероятно, именно с этим связано то, что лечение РС, хотя и значительно улучшилось в последние годы, не обеспечивает выздоровление пациентов (если это вообще возможно). Надежная ранняя диагностика РС также пока отсутствует. Очевидно, что любая новая достоверная информация о молекулярных механизмах, ассоциированных с РС, представляет большой интерес для разработки новых улучшенных методов терапии и/или способов диагностики заболевания до появления его первых признаков. В связи с вышесказанным, не вызывает сомнений актуальность диссертационной работы Овчинниковой Лейлы Александровны, которая посвящена комплексному анализу особенностей репертуара В-клеток, циркулирующих в крови пациентов с РС.

Научная новизна исследования и практическая значимость полученных результатов. С точки зрения новизны и практической значимости диссертационная работа Овчинниковой Л.А. представляет большой интерес. С одной стороны, создана и оптимизирована методическая платформа для создания специфических комбинаторных фаговых библиотек пептидов, на базе которой можно относительно быстро создавать новые библиотеки под другие задачи. На основе разработанной платформы сконструирована библиотека потенциальных аутоиммунных антигенов при РС, потенциал которой явно не исчерпан. С другой стороны, разработанная технология позволила выявить новые потенциальные маркеры РС, создать на их основе панель антигенов, которая продемонстрировала хорошие показатели специфичности и чувствительности. Кроме того, впервые показано присутствие в крови пациентов с активной формой РС повышенного содержания транзитных регуляторных В-клеток, что может являться как дополнительным прогностическим маркером, так и приоткрыть возможности дальнейших

исследований патогенетических механизмов, ассоциированных с гуморальным звеном иммунитета. Таким образом, полученные в ходе выполнения диссертационной работы Овчинниковой Л.А. результаты несомненно являются важными как для дальнейших фундаментальных исследований, так и для совершенствования методов диагностики РС и, возможно, терапии пациентов с этим заболеванием.

Структура и общая характеристика диссертационной работы.

Диссертация Овчинниковой Л.А. имеет традиционную структуру и содержит следующие главы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждения, а также Выводы, благодарности, список сокращений. Текст диссертации изложен на 125 страницах; он дополнен списком цитированной литературы, содержащим 221 источник, и пятью Приложениями.

Во введении обоснована актуальность исследования; оно содержит все необходимые разделы, включая цели и задачи, научную новизну и практическую значимость, положения, выносимые на защиту и т.д.

Обзор литературы обладает самостоятельной ценностью, поскольку автор не только систематизировал современные знания о репертуаре В-клеток, но и представил наиболее результативные новейшие подходы к их изучению. Важной частью обзора является описание имеющихся данных о роли В-клеток в развитии РС. О полноте информации, изложенной в обзоре, свидетельствует 191 ссылка, использованная при его составлении.

Глава «Материалы и методы» вызывает уважение, поскольку соискатель при выполнении работы использовал весьма широкий спектр методик, включая классические микробиологические методы работы с фагами и с *E. coli*, методики работы с эукариотическими продуцентами, с лентивирусными векторами и с В-клетками человека, методы традиционной генетической инженерии, методы проточной цитометрии, современные варианты фагового дисплея, методы очистки и характеристики белков и т.д. Статистический анализ данных корректно проведен с использованием GraphPad Prism 8.0.

Глава «Результаты и обсуждения» формально состоит из двух частей. Первая часть посвящена анализу профиля аутоантигенов, являющихся мишенью для антител при РС, в ходе которого были выявлены новые аутоантигены, ассоциированные с развитием РС и являющиеся, вероятно, новыми прогностическими маркерами. Вторая часть содержит описание изучения субпопуляции регуляторных В-клеток, показавшего повышенное содержание транзистных регуляторных В-клеток CD19⁺CD24^{high}CD38^{high} при активной форме РС и пониженный уровень гипермутагенеза в вариабельных доменах тяжелых и легких каппа-цепей иммуноглобулинов из субпопуляции этих В-клеток.

Обе части этой главы содержат разделы, посвященные разработке новых платформ/методов; в обеих частях разработанные методы успешно применяются для получения новых знаний. Также первая часть экспериментальной работы включает конструирование специфической комбинаторной фаговой библиотеки пептидов – фрагментов аутоантигенов при РС. Однако, в состав первой части еще входит совершенно отдельная работа по созданию «модельной» (а на самом деле полноценной) фаговой библиотеки пептидов S-белка вируса SARS-CoV-2, отработка на ней платформы для поиска антиген-специфических антител и получение на основе отобранных антител реальных полноразмерных антител, нейтрализующих инфекционность разных штаммов этого вируса, представляющих его разные варианты. Обе части главы «Результаты и обсуждения» сопровождаются кратким, но содержательным обсуждением полученных в рамках конкретной части результатов.

Все выводы, сделанные на основе полученных результатов, как и положения, выносимые на защиту, полностью обоснованы. Текст автореферата отражает основные результаты и принципиальные положения диссертации.

Следует подчеркнуть, что диссертация Овчинниковой Лейлы Александровны явно выходит за рамки квалификационной работы. Она плотно насыщена разработкой новых методик и подходов, а также получением и анализом все новых и новых результатов. Стоит отметить значительный объем проведенных исследований и привлечение широкого спектра методов, часть из которых отработаны в ходе выполнения данной работы. Представленная диссертация – серьезное научное исследование, выполненное на современном мировом уровне. Не случайно по результатам этой диссертационной работы опубликовано семь полноценных статей, в том числе и в высокорейтинговых журналах из первого квартиля по базам WoS и Scopus; в двух статьях соискатель является первым автором. Диссертация оставляет очень благоприятное впечатление и в плане ее оформления – ясность и логичность текста, точность, но не перегруженность описания экспериментов, высокое качество рисунков, к «понятности» которых автор отнесся с уважением к будущим читателям.

Замечания. Следует указать, что замечания носят технический или дискуссионный характер.

1. Термин «фаг-дисплейная библиотека» является прямой калькой с английского языка, вошедшей в лабораторный слэнг, и правильнее было бы использовать термин «комбинаторная фаговая библиотека пептидов/антител», давно введенный в русскоязычную научную литературу.

2. Если при идентификации кандидатных маркеров рассеянного склероза на основе данных PhIP-Seq наибольшее количество различных эпитопов обнаружено для нинеина, то почему в дальнейших экспериментах (исследование реактивности сывороток) эти пептиды не рассматривались.

Очевидно, что перечисленные замечания нисколько не умаляют значимость представленной диссертационной работы Овчинниковой Лейлы Александровны. Диссертация является полноценным комплексным научным исследованием. Цели и задачи данной работы, полученные результаты и сформулированные выводы полностью соответствуют заявленной специальности 1.5.3 – Молекулярная биология.

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Овчинниковой Лейлы Александровны “Структурно-функциональный анализ В-клеточного репертуара при рассеянном склерозе” по актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований и практической значимости соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным “Положением о присуждении ученых степеней” (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539; 26.09.2022 г. № 1690; 26.01.2023 г. № 101; 25.01.2024 № 62), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология.

Официальный оппонент:
заведующий лабораторией молекулярной микробиологии
Института химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук
д.б.н. Тикунова Нина Викторовна

630090, г. Новосибирск, ул. Ақ. Лаврентьева, 8
Тел. (383) 363-51-50. E-mail: tikunova@niboch.nsc.ru

Подпись д.б.н. Тикуновой Н. В.
«Удостоверяю»
Ученый секретарь
Института химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук
к.б.н. Логашенко Е.Б.



УФ
25 декабря 2024