

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Овчинниковой Лейлы Александровны «Структурно-функциональный анализ В-клеточного репертуара при рассеянном склерозе», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - «Молекулярная биология»

Рассеянный склероз является наиболее распространенным аутоиммунным неврологическим заболеванием, которым страдает порядка 3 миллионов человека во всем мире. Отсутствие полного понимания молекулярных механизмов заболевания и роли иммунной системы не позволяет проводить эффективную диагностику на ранних стадиях заболевания и проводить таргетную терапию, которая действует на причину возникновения патологии. Данная работа направлена на изучение спектра целевых аутоантигенов, которые могут вызывать аутовоспаление у пациентов с рассеянным склерозом, и изучение роли в этом процессе субпопуляции В-регуляторных клеток.

Для решения поставленных задач в работе были использованы современные методы молекулярной биологии: эмульсионная полимеразная цепная реакция, секвенирование следующего поколения, фаговый дисплей, цитофлуориметрия, клеточный сортинг, трансдукция клеток, ИФА, поверхностный плазмонный резонанс. На первом этапе работы была разработана и синтезирована библиотека перекрывающихся олигонуклеотидов, которые кодируют аутоантигены человека и белки, участвующие в деградации и клеточном цикле. Затем был разработан и оптимизирован метод эмульсионной ПЦР для амплификации библиотеки. На следующем этапе была сконструирована фаг дисплейная библиотека, размноженная в прокариотической системе, и проведена оценка функциональности полученных фагов. Далее фаги, которые экспонируют на своей поверхности пептиды аутоантител, инкубировали с сывороткой крови пациентов с РС и здоровых доноров для детекции аутоантител. Антитела связанные с фагом были выделены и последовательность ДНК, кодирующая антиген была отсеквенирована. Специфическое узнавание отобранных антигенов антителами из сыворотки крови пациентов с РС было верифицировано с помощью ИФА. На следующем этапе была проведена валидация антигенов методом ИФА на независимой выборке, которая состояла из здоровых доноров, пациентов с РС, боковым амиотрофическим склерозом (БАС) и заболеваниями спектра оптиконевромиелита (ЗСОНМ). Проведена оценка диагностической ценности биомаркеров с помощью ROC-

анализа. В дальнейшем были проанализированы фенотипы транзигтных В-регуляторных клеток и здоровых доноров. Также были проанализированы последовательности В-клеточных рецепторов, а также проведена оценка IL-10 секретирующих транзигтных В-регуляторных клеток. Применяемые методы адекватно соответствуют поставленной цели работы и соответствующим задачам.

Научная новизна работы заключается в исследовании репертуаров иммуноглобулинов у пациентов с РС. Впервые выявлены 3 ранее не ассоциированных с РС кандидатных маркера: альфа цепь спектрина 1 (SPTAN1601-644), периаксин (PRX451-494), тирозинкиназа-6 (PTK6301-344). Разработана платформа, позволяющая осуществлять высокопроизводительный скрининг антиген-специфичных иммуноглобулинов. Также продемонстрировано замедленное созревание популяции tVreg при развитии РС. Результаты работы расширяют понимание молекулярных механизмов развития РС, и углубляют знания о гетерогенности аутоиммунного ответа при РС, а также о роли В-клеток в его формировании.

Объем выполненных исследований адекватен и соответствует аттестационной работе кандидатского уровня. Автореферат написан грамотно, на хорошем языке, отмечается уместное использование специальной терминологии. Данные, полученные в результате выполнения этой работы, были опубликованы в 7 рецензируемых журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ, и доложены на 3-ех крупных международных конференциях.

Выводы диссертации хорошо сформулированы и обоснованы, вытекают из представленных результатов исследований.

При ознакомлении с авторефератом у меня возникли некоторые уточняющие замечания, которые ни в коей мере не снижают значимость и полноту проведенного исследования:

В работе используется не совсем корректная формулировка: «...разработан и оптимизирован метод амплификации сложных ДНК-матриц в каплях эмульсии... С использованием данного метода создана пептидная фаг-дисплейная библиотека», однако с помощью метода амплификации ДНК не могут быть получены пептиды.

В разделе с описанием подбора условий для эмПЦР не приведены количественные показатели для каждой комбинации условий, например можно

было привести показатели распределения и покрытия, что облегчило бы понимание выбора именно этих условий для читателя.

В приведенном ROC-анализе используется несколько комбинаций впервые предлагаемых маркеров, однако интересно посмотреть их в сравнении с уже существующими маркерами и сравнить показатели чувствительности и специфичности полученных классификаторов.

Таким образом, можно заключить, что работа Овчинниковой Лейлы Александровны 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). Уровень и качество исследований, представленных в автореферате Овчинниковой Л.А., показывают, что автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

Кандидат биологических наук,  
младший научный сотрудник  
лаборатории системной биологии  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ)  
119121, Россия  
Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8  
Тел. +7(499)246-69-80  
e-mail: n.vavilov95@gmail.com

«12» декабря 2024 г.

Подпись Вавилова Н.Э. заверяю  
к.х.н. Карпова Елена Анатольевна  
Ученый секретарь ИБМХ им. В.Н. Ореховича



Вавилов Никита Эдуардович