

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

Диссертационная работа Овчинниковой Лейлы Александровны «Структурно-функциональный анализ В-клеточного репертуара при рассеянном склерозе» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «1.5.3 Молекулярная биология» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН).

Актуальность исследования

Диссертационная работа Овчинниковой Л.А. «Структурно-функциональный анализ В-клеточного репертуара при рассеянном склерозе» посвящена изучению В-клеточного ответа при рассеянном склерозе. Рассеянный склероз продолжает являться самым распространенным аутоиммунным неврологическим заболеванием. Несмотря на значительные усилия, направленные на изучение рассеянного склероза, патогенез и молекулярные механизмы этого заболевания во многом остаются невыясненными.

Изначально предполагалось, что патогенез рассеянного склероза ассоциирован с Т-клеточным звеном, однако в дальнейшем основной упор был перенесен на В-клеточный иммунитет. Если участие В-клеточного звена в прогрессировании этого заболевания в настоящее время является общепринятым положением, то вовлеченность отдельных субпопуляций В-лимфоцитов, а также особенности репертуара их антиген-специфических рецепторов остаются мало изученными.

Цель данной работы - изучить особенности репертуара В-клеток человека в норме и при рассеянном склерозе.

Таким образом тема диссертации Овчинниковой Л.А. является вполне актуальной.

Новизна исследования

В исследовании Овчинниковой Л.А. были разработаны такие новые методические подходы как амплификации сложных ДНК-матриц в каплях эмульсии, а также была создана платформа для высокопроизводительного скрининга антиген-специфичных иммуноглобулинов. Оптимизированный метод амплификации позволили автору добиться уменьшения количества ошибок при проведении ПЦР-реакции, а также достичь увеличения выхода продукта реакции. Развивая предложенные методы, Овчинникова Л.А. создала пептидную фаг-дисплейную библиотеку, которая включает в себя большое количество потенциальных аутоиммунных мишеней человека. Эти новые методические подходы позволили выявить три ранее не известных кандидатных маркера рассеянного склероза, а именно альфа цепь спектрина 1, периаксин и тирозинкиназа-6.

Приоритетные результаты были получены по изучению субпопуляции транзистентных регуляторных В-клеток (tBreg). Эта популяция клеток осуществляет торможение иммунного ответа, и таким образом она является ключевой в развитии рассеянного склероза. Для этой популяции было определена секреция IL-10, а также был охарактеризован репертуар BCR рецептора.

Таким образом диссертационная работа Овчинниковой Л.А. обладает несомненной научной новизной.

Основные результаты диссертационной работы

Исследование Овчинниковой Л.А. фокусируется на изучении транзистентных В-регуляторных клеток при рассеянном склерозе, а также на определении репертуара BCR рецепторов этой клеточной популяции. Овчинниковой Л.А. были получены важные результаты, касающиеся особенностей популяции транзистентных В-регуляторных клеток при рассеянном склерозе.

Диссертационная работа Овчинниковой Л.А. построена по традиционному плану, включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение результатов исследования и их обсуждение, выводы, список литературы и приложение. Работа изложена на 154 страницах, содержит 41 рисунок и 12 таблиц. Список литературы включает ссылки на 221 научную публикацию, в том числе на публикации последних лет.

В работе соблюдено внутреннее единство. Глава «Обзор литературы» полностью соответствует теме работы и предоставляет все необходимые для понимания работы сведения. Тема обзора соответствует основным вопросам, поставленным в работе. Автор уделил большое внимание описанию субпопуляций В-лимфоцитов человека, а также современным подходам к изучению репертуаров иммуноглобулинов. Подробно обсуждается роль В-клеток в развитии рассеянного склероза.

Для получения результатов в работе использованы современные высокотехнологичные методы клеточной и молекулярной биологии и биохимии. В соответствующей главе представлена вся необходимая информация с достаточной степенью подробностей. Общий методический уровень работы высок, статистическая обработка данных выполнена корректно. Обычно фаговый дисплей используется или для поиска антител по известному антигену, или для поиска антигенов по известным антителам. К достоинствам данной работы относится то, что в ней были использованы обе эти возможности фагового дисплея.

Глава «Результаты и обсуждение» содержит большой объем экспериментальных данных. Описание полученных результатов логически обоснованное и поэтапное. Обсуждается место результатов автора в существующей на данный момент литературе. Выводы работы отражают полученные результаты и не вызывают сомнений в своей достоверности. Автор проводит детальный анализ всех полученных результатов и делает обоснованные выводы.

Автор опубликовал 7 статей на тему своей диссертации в рецензируемых научных изданиях, из которых все 7 были опубликованы в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией, 5 статей в журналах из Q1.

Выводы диссертации конкретны и полностью соответствуют цели и задачам выполненного исследования.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, а сама диссертация полностью отражена в научных статьях, опубликованных автором в ведущих международных и российских журналах, результаты работы были доложены на отечественных и международных конференциях.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследования

Были определены несколько неизвестных ранее кандидатных биомаркёров рассеянного склероза. В первую очередь к ним были отнесены пептиды из белков SPTAN1, PRX и РТК. Проведенный ROC-анализ показал, что одновременное использование 4 биомаркёров обладает высокой прогностической точностью.

По диссертации имеются некоторые замечания.

Овчинниковой Л.А. была создана фаговая библиотека аутоантигенов человека, которая содержала перекрывающиеся пептиды длиной 44 аминокислотных остатков. Вероятно, эти пептиды моделируют только линейные эпитопы. Хочется пожелать автору продолжить свое исследование с использованием более протяженных пептидов, которые способны моделировать также и конформационные эпитопы.

В работе были получены RBD-связывающие антитела Vac-3.1 и Vir-1.7. Необходимо было указать какой вариант SARS-CoV-2 был использован для получения этих антител.

В Выводе 5 слово «репертуар» стоит не на своем месте.

На стр. 129 сказано, что «в генах зародышевых линий тяжёлых и лёгких каппа цепей в области вариабельных фрагментов у пациентов с РС содержится меньше мутаций по сравнению со здоровыми донорами». По все вероятности речь идет не о мутациях в зародышевой линии, а о соматических гипермутациях.

В тексте диссертации встречаются некоторые неудачные обороты. Например, «У пациентов с РС повышен сывороточный титр tBreg с

фенотипом» (стр. 120); «Существование нескольких альтернативных методов дифференцировки Breg» (стр. 119).

Высказанные замечания не затрагивают полученных результатов и сущности сделанных выводов, а также не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой диссертации.

Заключение

Диссертационная 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), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология.

Официальный оппонент:
заведующий лабораторией иммунохимии
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Государственный научный центр «Институт иммунологии»
Федерального медико-биологического агентства России
д.б.н., профессор Филатов Александр Васильевич

Филатов

115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24
Тел. (499) 612-81-85. E-mail: avfilat@yandex.ru

