



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта  
Российской академии наук  
(ИМБ РАН)**

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,  
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: [isinfo@eimb.ru](mailto:isinfo@eimb.ru)  
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

*Иск. от 14.12.2024 № 12312-13/481*

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ

Директор  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Института молекулярной  
биологии  
им. В.А. Энгельгардта  
Российской академии наук  
академик РАН,  
доктор биологических наук  
Георгиева София Георгиевна



202\_\_ г.

**ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОТЗЫВ**

Ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук 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 исследования**

Диссертация Овчинниковой Л.А. посвящена изучению особенностей репертуаров иммуноглобулинов и В-клеточных рецепторов при развитии рассеянного склероза. Рассеянный склероз является одним из наиболее распространённых аутоиммунных заболеваний, поражающих трудоспособную часть населения. При этом, этиология и молекулярные механизмы развития данного заболевания до конца не ясны. Рассеянный склероз часто диагностируется спустя годы после начала заболевания, когда некоторые функции организма могут быть безвозвратно утрачены. Современная терапия рассеянного склероза сводится к снижению темпов прогрессирования заболевания и не способна привести к полному выздоровлению. Прояснение

молекулярных механизмов развития данной патологии не только внесет вклад в фундаментальную науку, но и способно в будущем улучшить диагностику данного заболевания. Целью диссертационной работы Овчинниковой Л.А. являлось выявление особенностей репертуаров В-клеток человека при развитии рассеянного склероза.

### **Научная новизна исследования**

В работе представлены новые данные об особенностях аутоиммунного ответа при рассеянном склерозе. Автором впервые выявлены новые потенциальные аутоантигены при рассеянном склерозе – альфа цепь спектрина 1 (SPTAN1<sub>601-644</sub>), периаксин (PRX<sub>451-494</sub>), тирозинкиназа-6 (PTK6<sub>301-344</sub>). Автором обнаружена задержка созревания субпопуляции транзientных регуляторных В-клеток с фенотипом CD19<sup>+</sup>CD24<sup>high</sup>CD38<sup>high</sup> у пациентов с рассеянным склерозом. Кроме этого, автором разработан протокол равномерной амплификации сложных матриц ДНК в каплях эмульсии, с помощью которого была создана библиотека аутоантигенов человека, которая и использовалась для поиска аутоиммунных мишеней при рассеянном склерозе. Так же автором создана платформа для высокопроизводительного скрининга антиген-специфичных иммуноглобулинов. Обе разработки имеют большой практический потенциал и могут быть использованы для анализа В-клеток и антител, ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями.

### **Структура и содержание работы**

Диссертация Овчинниковой Л.А. построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждений, выводов, благодарностей, списка сокращений, списка цитированной литературы, включающего 221 источник, приложений. Диссертация изложена на 154 страницах, содержит 41 рисунок и 12 таблиц.

В разделе “Обзор литературы” автор описывает вклад В-клеточного звена в развитие рассеянного склероза, а также современные подходы к изучению репертуаров иммуноглобулинов.

В разделе “Материалы и методы” последовательно описаны основные методы, используемые в данной работе, включая методы работы с нуклеиновыми кислотами, белками, бактериями *E. coli*, бактериофагами, с эукариотическими линиями клеток, с В-клетками человека, а также статистический анализ данных.

Раздел “Результаты и обсуждения” включает в себя два подраздела. Первый раздел посвящён поиску кандидатных аутоантигенов при рассеянном склерозе. Автор последовательно описывает создание фаговой библиотеки потенциальных аутоантигенов человека, верификацию данной системы на модельных бактериофагах, иммунопреципитацию полученной фаговой библиотеки с антителами пациентов с рассеянным склерозом. По результатам проведенной иммунопреципитации Овчинникова Л.А. выделяет 8 потенциальных аутоантигенов,

обогатившихся у пациентов с рассеянным склерозом по сравнению со здоровыми донорами (пептиды SPTAN1<sub>601-644</sub>, DPP4<sub>481-524</sub>, GPI<sub>31-74</sub>, HAVCR1<sub>31-74</sub>, POU4F1<sub>91-134</sub>, PRX<sub>451-494</sub>, РТК6<sub>301-344</sub>, KRT1<sub>301-344</sub>). Наличие повышенного титра сывороточных антител к ряду идентифицированных аутоантигенов было верифицировано на расширенной выборке пациентов и здоровых доноров. Автором также была произведена оценка уровня сывороточных антител к классическим миелиновым антигенам и антигенам вируса Эпштейна-Барр. Овчинникова Л.А. установила, что использование панели потенциальных биомаркёров, выявленных в данной работе (антитела к SPTAN1<sub>601-644</sub>, PRX<sub>451-494</sub>, РТК6<sub>301-344</sub>) в сочетании с противовирусными антителами к фрагменту латентного мембранного белка 1 вируса Эпштейна-Барр (LMP1) обладает высокой прогностической ценностью для выявления рассеянного склероза. Автор отмечает, что исследованные в работе аутоантигены ранее не ассоциировались с рассеянным склерозом. В конце данного раздела приводится современный взгляд на участие В-клеточного звена в развитии рассеянного склероза и роль вируса Эпштейна-Барр в данном процессе.

Второй раздел “Результатов и обсуждений” посвящён анализу репертуаров транзистных В-регуляторных клеток с фенотипом CD19<sup>+</sup>CD24<sup>high</sup>CD38<sup>high</sup> у пациентов с рассеянным склерозом и здоровых доноров. По результатам проведенного анализа Овчинникова Л.А. выявила, что гены V<sub>H</sub> и V<sub>K</sub> иммуноглобулинов в транзистных В-регуляторных клетках, полученных из периферической крови пациентов с рассеянным склерозом, менее мутированы по сравнению с таковыми у здоровых доноров. Автор также обнаружил, что содержание CD27<sup>+</sup> клеток в субпопуляции CD19<sup>+</sup>CD24<sup>high</sup>CD38<sup>high</sup> у пациентов с рассеянным склерозом снижено по сравнению со здоровыми донорами. При этом, процентное содержание и абсолютное количество В-регуляторных клеток памяти, наивных В-клеток и В-клеток памяти были одинаковыми у здоровых доноров и пациентов с рассеянным склерозом. Исходя из перечисленных наблюдений, автором делается вывод о том, что развитие рассеянного склероза сопряжено с замедленным созреванием субпопуляции транзистных В-регуляторных клеток.

### **Обоснованность и достоверность результатов**

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Эксперименты выполнены с использованием объективно выбранных методов и оборудования, результаты описаны точно и подробно, а выводы соответствуют поставленным задачам. Диссертационная работа изложена логично и последовательно. Результаты опубликованы в рецензируемых международных журналах, в том числе, относящихся к первой четверти (PNAS, Communications biology, Frontiers in Immunology, IJMS, Life (Basel), Acta Naturae, Доклады академии наук).

### Пожелания и замечания

Принципиальные замечания к работе отсутствуют. В тексте встречаются неизбежные при таком объеме текста опечатки.

В работе описывается создание платформы для поиска антиген-специфичных антител. Верификация данной платформы проводилась на вирусных антигенах. Использование данной платформы для поиска аутоантител при рассеянном склерозе существенно улучшило бы данную работу.

Указанные недостатки не являются существенными и не снижают общего положительного впечатления от диссертационной работы, выполненной на высоком уровне.

### Заключение по работе

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.

Отзыв обсужден и одобрен на семинаре лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний (протокол № 1 от 11.12 2024г.)

Составитель отзыва

д.б.н., профессор

Рубцов Пётр Михайлович

ФГБУН Институт молекулярной биологии

им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН

rubtsov@imb.ru

+79168019388

Подпись \_\_\_\_\_

Подпись Рубцова П.М. удостоверяю

Учёный секретарь ФГБУН Института молекулярной биологии

им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, к.ф.-м.н.

Коновалова Елизавета Владимировна

Подпись \_\_\_\_\_

. М. П.

