

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

Ларионовой Натальи Валентиновны

на диссертационную работу Сорокина Евгения Валентиновича

**«ЭПИТОПНОЕ КАРТИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЫ ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСОВ
ГРИППА В ЯМАГАТСКОЙ И ВИКТОРИАНСКОЙ ЭВОЛЮЦИОННЫХ ЛИНИЙ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 03.02.02 – Вирусология

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.

Способность вирусов гриппа к непрерывной эволюции является их важной биологической особенностью, которая значительно осложняет борьбу с инфекцией. Гриппозные эпидемии ежегодно поражают десятки тысяч людей с развитием клинических симптомов и тяжелых осложнений. Массовый характер эпидемий гриппа, выводящий из сфер материального производства значительные людские контингенты, резкое повышение смертности уязвимых групп лиц в результате гриппозных заболеваний, тяжелые осложнения, выявляющиеся у переболевших гриппом зачастую намного позже эпидемической волны, - все эти причины определяют социально-экономическое значение гриппозных эпидемий, их возбудителей, а следовательно, и актуальность исследований, связанных с изучением и постоянным контролем изменчивости вирусов гриппа.

Существенный вклад в эпидемический процесс вносят вирусы гриппа В, однако многие аспекты особенностей их структурной организации и эволюции остаются недостаточно изученными.

Диссертационное исследование Евгения Валентиновича Сорокина вносит весомый вклад в восполнение пробелов в области характеристики антигенной структуры и рецептор-связывающих свойств гемагглютинина вирусов гриппа В.

Цель представленного к защите исследования заключалась в эпитопном картировании молекулы гемагглютинина вирусов гриппа В эволюционных линий Ямагата и Виктория с помощью разработанных моноклональных антител, идентификации аминокислотных остатков вирусов, значимых для связывания с вируснейтрализующими антителами и рецепторного взаимодействия с клеткой хозяина.

СТРУКТУРА И ОБЪЕМ ДИССЕРТАЦИИ. Диссертационная работа изложена на 169 страницах машинописного текста, содержит 16 таблиц и 68 рисунков. Традиционное построение диссертации включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, главу результатов исследования из пяти подразделов, обсуждение, выводы и приложения. Список литературы состоит из 217 цитируемых источников.

Во введении автором обоснована актуальность исследований, сформулированы цель и задачи работы, ее научная новизна и практическая значимость. Обзор литературы представлен на современном научном уровне и глубоко раскрывает проблему исследования. Каждая глава собственных исследований заканчивается заключением с обобщением полученных результатов. Обсуждение и выводы полноценно охватывают проведенные исследования и полученные результаты.

ПУБЛИКАЦИИ. По материалам диссертационных исследований автором опубликовано 13 научных статей, включая 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК. Получен 1 патент на изобретения РФ.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА ИССЛЕДОВАНИЯ обусловлена успешным решением поставленных задач по получению и характеристике панели моноклональных антител к гемагглютиниону вирусов гриппа В эволюционных линий Виктория и Ямагата, получению резистентных к вируснейтрализующему действию моноклональных антител эскейп-мутантов вирусов и определению с их помощью иммунодоминантных антигенных детерминант в составе большой субъединицы гемагглютиниона (НА1), проведению эпитопного картирования гемагглютиниона вирусов гриппа В обеих эволюционных линий с построением трехмерных моделей гемагглютиниона, а также выявлению в структуре НА1 вирусов гриппа В позиций для рецепторного взаимодействия с чувствительной клеткой.

Работа расширяет представления о структуре иммунодоминантных сайтов в составе молекулы гемагглютиниона вирусов гриппа В линий Ямагата и Виктория.

Так,

впервые в России разработаны панели вируснейтрализующих моноклональных антител, направленных к антигенным детерминантам в составе гемагглютиниона вирусов гриппа типа В линий Виктория и Ямагата;

впервые получены моноклональные антитела к вирусам гриппа В линии Виктория, позволяющие четко дифференцировать изоляты, выделенные в различных системах культивирования (куриные эмбрионы и культура клеток MDCK);

впервые в большой субъединице гемагглютиниона (НА1) вирусов гриппа В обеих линий выявлен ряд новых антигенных детерминант, ответственных за выработку вируснейтрализующих антител;

экспериментально подтверждена роль определенных аминокислотных остатков в составе HA1 в реализации рецептор-связывающих свойств вирусов гриппа В.

Сорок семь эскейп-мутантов вирусов гриппа В, полученных автором, депонированы в Коллекцию вирусов ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России и в Государственную коллекцию вирусов. Ряд полученных моноклональных антител представлен в «European Virus Archive».

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ. Автор позиционирует работу, как имеющую преимущественно теоретический характер. Тем не менее, работа также имеет практическую направленность, поскольку полученные наборы эскейп-мутантов позволяют оценивать антигенную эволюцию и биологические свойства гемагглютинина вируса гриппа В на эпитопном уровне. Это может быть полезно при отборе эталонных штаммов для включения их в состав современных диагностикумов и вакцин. Полученные моноклональные антитела полезны для более тонкого антигенного анализа циркулирующих вирусов гриппа в сравнении с поликлональными сыворотками, а некоторые из них – перспективными иммунореагентами для конструирования высокочувствительных и специфичных диагностических тест-систем.

СТЕПЕНЬ ОБОСНОВАННОСТИ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, ВЫВОДОВ И РЕКОМЕНДАЦИЙ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ, ИХ ДОСТОВЕРНОСТЬ И НОВИЗНА. Достоверность и объективность выносимых на защиту положений и выводов диссертации подтверждается значительным объемом исследований, скрупулезной точностью оценки полученных результатов, большим фактическим материалом, полученным с использованием современных вирусологических, иммунологических и молекулярно-генетических методов исследований, глубоким осмыслением результатов.

Созданная панель вируснейтрализующих моноклональных антител обеспечила возможность получения серии эскейп-мутантов и проведения антигенного анализа современных вирусов гриппа типа В эволюционных линий Виктория и Ямагата.

Антигенное картирование гемагглютинина эскейп-мутантов позволило выявить ранее не идентифицированные иммунодоминантные эпитопы в составе молекулы гемагглютинина.

Автором установлено, что эпитопы, ответственные за связь с вируснейтрализующими антителами, могут находиться в двух разных антигенных сайтах гемагглютинина вирусов гриппа В.

Документировано, что антигенная изменчивость современных вирусов гриппа В Викторианской линии может осуществляться за счет инсерций аминокислотных остатков в составе гемагглютинаина.

Выявлено, что аминокислотные замены в положениях 202 и 242 гемагглютинаина у вирусов гриппа В линии Ямагата, и в положениях 202 и 203 – у вирусов гриппа В линии Виктория играют важную роль для рецепторной специфичности вирусной частицы.

На основании представленных материалов можно сделать вывод о том, что диссертация Евгения Валентиновича Сорокина является законченным научно-исследовательским трудом, имеющим существенное значение для фундаментальной науки и для практических целей надзора за циркулирующими вирусами гриппа В. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. Работа базируется на значительном числе исходных данных.

Содержание автореферата в достаточной мере отражает содержание диссертации.

ВОПРОСЫ И ЗАМЕЧАНИЯ ПО ДИССЕРТАЦИИ

В анализируемой диссертации существенных недостатков не выявлено, замеченные единичные опечатки нисколько не умаляют общего благоприятного впечатления от проведенных исследований и в целом от работы. Однако, хотелось бы отметить следующее:

- В разделе Материалы и методы фактически не представлены использованные в работе материалы, в частности не перечислены штаммы вирусов гриппа и источники их получения.
- В основном, в оформлении диссертационного исследования автор четко придерживается нормативов ГОСТ Р 7.0.11-2011. Отсутствуют, однако, требуемые нормативами списки таблиц и рисунков, в изложении результатов работы не представлены ссылки на собственные публикации автора по теме исследования.

ВОПРОСЫ:

1. Взаимодействуют ли моноклональные антитела, полученные к штамму В/Брисбен/46/15, (эволюционная линия В Виктория, генетическая группа V1A) с современными штаммами гриппа В, имеющими делеции в гемагглютинине, генетических групп V1A-Δ2 162-163 (В/Колорадо/06/2017 – подобные вирусы) и V1A-Δ3 162-164 (В/Вашингтон/02/2019 – подобные вирусы)?
2. Штамм В/Россия/69 неожиданно взаимодействовал в РТГА с моноклональными антителами к современному вирусу В/Брисбен/46/15, аналогу В/Брисбен/60/08 (линия Виктория), и не взаимодействовал с изолятами более ранних 1972, 1979 и

1983 лет выделения. Хотелось бы уточнить у автора источник получения штамма В/Россия/69, и был ли этот штамм секвенирован автором?

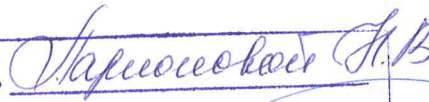
ЗАКЛЮЧЕНИЕ О СООТВЕТСТВИИ ДИССЕРТАЦИИ КРИТЕРИЯМ ПОЛОЖЕНИЯ О ПРИСУЖДЕНИИ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ.

Диссертационная работа Евгения Валентиновича Сорокина «Эпитопное картирование молекулы гемагглютинаина вирусов гриппа В Ямагатской и Викторианской эволюционных линий с использованием моноклональных антител» по актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной новизне, качеству и значимости полученных результатов полностью отвечает требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемого ВАК Российской Федерации к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.02.02 – «Вирусология».

Официальный оппонент –
доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник
отдела вирусологии ФГБНУ «ИЭМ»,

Н.В. ЛАРИОНОВА

12 января 2021 г.

Подпись 
Удостоверяется
Нач. отдела УП и Д ФГБНУ «ИЭМ»



Хабарова О.В.