

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Хлусевич Яны Александровны «Группоспецифические вируснейтрализующие рекомбинантные антитела против иммунодоминантного белка р35 ортопоксвирусов: получение и характеристика», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Прекращение для всех людей вакцинации против оспы в 1980 году по распоряжению Всемирной организации здравоохранения привело к тому, что в мире все меньше остается людей, не восприимчивых к вирусу натуральной оспы, т. е. сокращается численность резистентного коллектива, что чрезвычайно важно для развития эпидемического процесса. Кроме этого, существует опасность со стороны других ортопоксвирусных инфекций, вызывающих оспоподобные заболевания у человека. Распространение их в человеческой популяции среди иммунодефицитных особей, может привести к усилению их вирулентности, утрате видовой специфичности и появлению эпидемически опасных штаммов. В связи с этим все научные работы в направлении создания и совершенствования вакцин против ортопоксвирусных инфекций являются **особо актуальными**.

Диссертация изложена на 155 страницах, написана по традиционной схеме, имеет все необходимые разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты и их обсуждение, выводы, список цитируемой литературы (210 наименований). Включает 39 рисунков и 9 таблиц.

В обзоре литературы автором диссертационной работы приведены необходимые для понимания проблемы данные относительно метода фагового дисплея, характеристики ортопоксвирусов, современных методов характеристики антител и, в частности, картирования эпитопов.

Из главы **Материалы и методы** следует, что исследовательская работа Я. А. Хлусевич выполнена современными методами и подходами молекулярной биологии, иммунологии и клеточной биологии, позволившими корректно решить задачи, необходимые для поставленной цели.

Конкретная цель диссертационной работы Я. А. Хлусевич, которая и определила **научную значимость и новизну работы**, состояла в наработке рекомбинантных антител, обладающих вируснейтрализующей активностью против

ряда гетерологичных ортопоксвирусных штаммов, полная их характеристика, прежде всего, определение консервативных участков-эпитопов, мишеней этих антител. В ходе проведения исследования получены **результаты**, имеющие **фундаментальное и практическое значение**.

Фактически в этой работе **впервые** обнаружены и описаны, проведено эпитопное картирование **широконейтрализующих антител** для группы ортопоксвирусов. Из фаговой библиотеки, созданной на основе материала иммунизированных добровольцев, выделены антитела, которые связываются со всеми ортопоксвирусами за счет наличия консервативных сайтов в белке р35, и эта мишень может быть основой для создания эффективных иммуногенов. Автором диссертации проведена трудоемкая работа по эпитопному картированию. Эпитопное картирование вирусов имеет дополнительные трудности, заключающиеся в том, что его вируснейтрализующие эпитопы, как правило, скрыты, слабо иммуногенны или мимикрируют под структуры хозяина. В картировании эпитопа полностью проявилась высокая квалификация. Охарактеризованный конформационный эпитоп может быть в дальнейшем использован для создания вакцин, диагностики и таргетной терапии, а также для контроля за эволюцией вирусных штаммов.

Главное было определить, способны ли полученные антитела нейтрализовать соответствующие вирусы. Эта часть работы проведена *in vitro* на культуре чувствительных к ортопоксвирусам клеток. Доказательная база не вызывает сомнений. Действительно обработка зараженных вирусом клеток широконейтрализующими антителами вызывает ингибирование вирусной активности. Логическим доказательством иммуногенности охарактеризованного эпитопа явились предварительные эксперименты по иммунизации мышей, в которых подтверждена его эффективность.

В целом проведенная работа логична, последовательно описана, результаты хорошо иллюстрированы.

Выводы обоснованы и соответствуют полученным результатам.

Основные результаты работы опубликованы в 5 статьях научных журналов из списка ВАК, а также в журналах Web of science, представлены на 14 конференциях.

Научная работа Я. А. Хлусевич вносит существенный вклад в современные представления молекулярной иммунологии о роли широконейтрализующих антител против антигенов опасных для человека патогенов в реализации вак-

цинного процесса, что определяет несомненное теоретическое значение и фундаментальность полученных результатов.

Замечания.

1. В обзоре литературы и далее в работе остались без внимания подклассы IgG, которые различаются как структурой, так и функцией, в особенности это касается вируснейтрализующей активности.
2. Поскольку одной из главных задач работы является эпитопное картирование, в работе не хватает представления и обсуждения механизма динамического межмолекулярного взаимодействия эпитопа и паратопа, в течение которого происходит конформационное изменение того и другого, приводящее к повышению аффинитета и специфичности связывания

Заключение: диссертационная работа Яны Александровны Хлусевич «Группоспецифические вируснейтрализующие рекомбинантные антитела против иммунодоминантного белка р35 ортопоксвирусов: получение и характеристика», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология», является законченной работой, выполненной методами на уровне мировых стандартов и соответствует паспорту специальности. Содержание работы соответствует критериям, установленным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Диссертация оформлена в соответствии с Приложениями №5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени.

Старший научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института цитологии и генетики СО РАН, к. б. н.

630090, Новосибирск. Ул. Терешковой, д. 12, кв. 123

nelly@bionet.nsc.ru

Тел. 89137812353

Нелли

Попова Нэлли Александровна

04 декабря 2019

*Ученый секретарь
к. б. н.
Попова Г. В.*



06.12.2019