

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Сорокина Евгения Валентиновича на тему «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

Грипп представляют собой серьезную проблему для общественного здравоохранения. Ежегодно в мире регистрируется до 1 миллиарда случаев гриппа. Сезонные эпидемии гриппа наносят большой социально-экономический ущерб. Вирус гриппа В вызывает примерно одну треть от общего числа всех случаев заболеваний гриппом. У детей вирус гриппа В часто вызывает тяжелые формы респираторных инфекций с высокой частотой осложнений.

Вирус гриппа В подразделяется на две филогенетически и антигенно различные линии (Ямагатская и Викторианская). В настоящее время в мире происходит ко-циркуляция указанных линий.

Исследование антигенной структуры гемагглютинина различных линий вируса гриппа В и рецептор-связывающих свойств возбудителя является актуальной научно-исследовательской задачей и имеет не только теоретическую, но и практическую значимость.

Целью проводимого исследования являлось эпитопное картирование молекулы гемагглютинина вируса гриппа типа В Ямагатской и Викторианской эволюционных линий с использованием разработанных моноклональных антител (МКАт).

В ходе исследований получены панели МКАт к гемагглютинину вируса гриппа В Викторианской и Ямагатской эволюционных линий, получены эскейп-мутанты (ЭМ) вируса гриппа типа В обеих указанных линий, определены иммунодоминантные антигенные детерминанты в составе большой субъединицы гемагглютинина (HA1), ответственные за индукцию

синтеза вируснейтрализующих антител, проведено эпитопное картирование гемагглютинина вирусов гриппа В Викторианской и Ямагатской эволюционных линий с построением трехмерных моделей гемагглютинина, в структуре гемагглютинина выявлены аминокислотные позиции, важные для реализации рецепторных функций вируса гриппа В.

Научная новизна работы состоит в разработке панелей МКАт к эпитопам гемагглютинина вируса гриппа В Викторианской и Ямагатской эволюционных линий и получении МКАт к вирусу гриппа В Викторианской линии, позволяющие дифференцировать изоляты, выделенные в различных системах культивирования (куриные эмбрионы и культура клеток MDCK). Созданная панель МКАт обеспечила возможность получения серии эскейп-мутантов и проведения антигенного анализа вируса гриппа В Викторианской и Ямагатской эволюционных линий. Научная новизна работы подтверждена патентом на изобретение РФ.

По теме диссертации автором опубликовано 13 работ, в числе которых 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Автореферат диссертации Е.В.Сорокина содержит все необходимые сведения, определенные п.20 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...».

При общей положительной оценке представленной работы необходимо отметить ее отдельные недостатки.

1 Автореферат оформлен с отклонениями от требований ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Общие требования к оформлению кандидатских и докторских диссертаций и авторефератов диссертаций по всем отраслям знаний». В разделе «Общая характеристика работы» отсутствует структурный элемент «Методология и методы исследования», предусмотренный ГОСТ Р 7.0.11-2011 структурный элемент – «Теоретическая и практическая значимость работы» по тексту обозначен как «Практическая значимость работы» (стр.5),

структурный элемент «Степень достоверности и апробация результатов» по тексту обозначен как «Апробация материалов диссертации».

2 Имеются отдельные неточности при изложении используемых в работе методов исследований. Так, при описания процесса получения гибридом пропущен такой необходимый элемент, как скрининг антителпродуцирующих гибридных клеток, при описании постановки ИФА после сенсibilизации лунок планшетов и отмывания несвязавшегося антигенного материала перед внесением МКАт пропущен такой важный элемент, как блокирование свободных участков поверхности лунок (которое обычно проводят при использовании БСА).

Оценку вируснейтрализующей активности антител все-таки предпочтительней проводить при использовании какой либо модификации реакции нейтрализации, достаточным является (в используемой автором методике) регистрация ЦПД в опытных (содержащих смесь равных объемов вируссодержащего материала и разведений МКАт) и контрольных (вируссодержащий материал без добавления МКАт) лунках. Введение дополнительного метода (ИФА) излишне усложняет процесс.

При описании осаждения вирусов, их очистке вируса при центрифугировании в градиенте концентрации сахарозы, правильнее указывать не ускорение, выраженное в «g», а угловую скорость (об/мин) с указанием конкретно использованных центрифуг и роторов. Данное обстоятельство имеет значение как в связи с тем, что ускорение, выраженное в «g», зависит не только от угловой скорости, но и радиуса вращения, т.е. является неодинаковым в верхней и нижней частях центрифужного стакана, так и в связи с тем, что *«осаждение вируса из зоны 36-40% сахарозы на дно при 120 000g»* (стр. 6) может быть корректно проведено только при использовании угловых роторов.

3 Следует высказать отдельные замечания по оформлению автореферата. Текст работы содержит большое число аббревиатур,

нерасшифрованных при первом упоминании. На одной и той же странице автореферата в соседних абзацах линия мышей обозначена и как Valb/c и как VALB/c (стр. 7), в таблице 1 (стр.22) титр РГА с эритроцитами обозначен в виде прямой величины (1/128), при этом автор в ряде случаев использует неточные, с математической точки зрения, показатели ($< 1/2$), в таблице 2 (стр. 24) представлена (без указания в соответствующей графе таблицы) обратная величина титра, в данном случае, выражение « < 2 » является корректным.

По тексту автореферата автор неоправданно часто употребляет пассивный залог, например, *Первичная характеристика полученных моноклональных антител **проводилась** в ИФА* (стр.7) правильно: первичную характеристику полученных моноклональных антител проводили в ИФА. В работе содержатся отдельные орфографические (пример указан выше) и синтаксические ошибки, неудачно составленные предложения, например, на стр. 3 при описании актуальности темы исследования.

Однако отмеченные недостатки не оказывают влияния на общую положительную оценку представленной работы.

ВЫВОД: Автореферат диссертации Е. В.Сорокина соответствует требованиям п.20 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...».

Отзыв составили:

Начальник отдела

ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России,
доктор медицинских наук

Ведущий научный сотрудник отдела
ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России,
доктор биологических наук, профессор

Подписи Петрова А.А. и Лебедева В.Н. заверяю
ВРИО Ученого секретаря научно-технического совета
ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России
кандидат медицинских наук

 Петров Александр Анатольевич

 Лебедев Виталий Николаевич

Пирожков А.П.

« » декабря 2020 г.