

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель начальника

Военно-медицинской академии

по учебной и научной работе

доктор медицинских наук профессор

Б.Н. Котив



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Сорокина Евгения Валентиновича «Эпитопное картирование молекулы гемагглютинаина вирусов гриппа В Ямагатской и Викторианской эволюционных линий с использованием моноклональных антител», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Актуальность темы выполненной работы и её связь с соответствующими отраслями науки и практической деятельности.

Известно, что сезонные эпидемии гриппа наносят большой медицинский и социально-экономический ущерб. При этом, значительный вклад в эпидемический процесс вносят вирусы гриппа В, вызывая примерно одну треть от общего числа заболеваний гриппом. Они представляют наибольшую опасность для детей и пожилых людей, и могут служить причиной развития тяжелых форм респираторных инфекций, способных приводить к летальным исходам. Известно также, что лучшим способом профилактики гриппа являются вакцины, однако при гриппе В нередко наблюдается несоответствие штаммов, введенных в состав вакцин и циркулирующих вирусов, возникающих вследствие спонтанной и непредсказуемой до сих пор смены одной из существующих эволюционных линий на другую. Необходимо отметить, что механизм этого явления, как и детальная антигенная структура молекулы гемагглютинаина вирусов гриппа В изучены недостаточно. В этой связи диссертационная работа Сорокина Е.В., посвященная изучению структуры гемагглютинаина современных штаммов вирусов гриппа В Ямагатской и Викторианской эволюционных линий на эпитопном уровне, является крайне актуальной.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Высока и научная новизна работы, поскольку впервые в России разработаны панели разнонаправленных, высоко специфичных МКА к вирусам гриппа В разных эволюционных линий, обладающих выраженной антигемагглютинирующей и вируснейтрализующей активностью. Эта работа существенно расширяет существующие представления о структуре иммунодоминантных сайтов в составе молекулы гемагглютинина вирусов гриппа типа В Ямагатской и Викторианской линий. Все научные положения обоснованы.

Лично диссертантом были разработаны панели вируснейтрализующих моноклональных антител к вирусам гриппа В обеих эволюционных ветвей, которые в дальнейшем были успешно использованы для эпитопного картирования молекулы гемагглютинина. Автором проведено исследование антигенной структуры гемагглютинина вирусов гриппа В и рецептор-связывающих свойств возбудителя, что имеет не только теоретическую, но и практическую значимость. В ходе исследования Сорокиным Е.В. были получены и охарактеризованы моноклональные антитела к ряду штаммов вирусов гриппа В Ямагатской и Викторианской линий, получены эскейп-мутанты (ЭМ) вирусов гриппа типа В обеих эволюционных линий, резистентные к вируснейтрализующему действию моноклональных антител. По результатам секвенирования эскейп-мутантов им были определены иммунодоминантные антигенные детерминанты в составе большой субъединицы гемагглютинина (HA1), ответственные за индукцию синтеза вируснейтрализующих антител. При этом были выявлены новые, ранее не идентифицированные, эпитопы в составе молекулы гемагглютинина. В итоге работы автору удалось провести эпитопное картирование гемагглютинина вирусов гриппа В обеих эволюционных линий с построением трехмерных моделей гемагглютинина. Установлено, что эпитопы, ответственные за связь с вируснейтрализующими антителами, могут находиться в разных антигенных сайтах гемагглютинина вирусов гриппа В.

Документировано, что антигенная изменчивость современных вирусов гриппа В Викторианской линии может осуществляться не только за счет делеции аминокислот в составе HA1, выявленных у современных вирусов гриппа В Викторианской линии, но и за счет инсерций аминокислотных остатков в состав гемагглютинина. Дополнительно к этому им были выявлены позиции в HA1, существенно важные для реализации рецепторных функций вируса.

Работа выполнена на высоком современном научно-методическом уровне с использованием точных вирусологических и иммунологических методов, а также методов гибридной технологии, секвенирования и построения пространственной трехмерной структуры HA1 с локализацией аминокислотных замен. Диссертантом установлено, что многие идентифицированные в данном исследовании аминокислотные остатки вовлечены в формирование рецептор-связывающего кармана гемагглютинина вируса гриппа В.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов.

Результаты рецензируемой диссертационной работы имеют не только теоретическую значимость, заключающуюся в уточнении архитектоники молекулы HA1 вирусов гриппа В на эпителиальном уровне, но и существенную практическую значимость. Полученные моноклональные антитела оказались полезными 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. Тринадцать эскейп-мутантов вируса гриппа В депонированы в Государственной коллекции вирусов, а ряд полученных Сорокиным Е.В. моноклональных антител был включен в «European Virus Archive».

Структура и содержание работы.

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.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

Полученные МКА с идентифицированными сайтами взаимодействия с вирусом могут быть использованы для анализа антигенной вариабельности циркулирующих вирусов гриппа В. С точки зрения эволюции вирусов гриппа В научный интерес представляет контроль за появлением аналоговых мутаций и инсерций в будущих вариантах вирусов гриппа В обеих эволюционных линий.

Автор дает конкретные рекомендации по дальнейшему использованию результатов работы: планируется провести изучение влияния единичных аминокислотных замен в HA1 на рецептор-связывающие свойства вирусов гриппа В, в том числе, с использованием синтетических аналогов рецепторов.

Замечания к работе.

В анализируемой диссертации очевидных недостатков не выявлено, замеченные отдельные опечатки нисколько не умаляют общего благоприятного впечатления от проведенных исследований, и в целом, от работы.

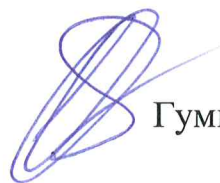
Заключение.

Диссертация Сорокина Евгения Валентиновича на тему «Эпитопное картирование молекулы гемагглютинаина вирусов гриппа В Ямагатской и Викторианской эволюционных линий с использованием моноклональных антител», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная задача по анализу антигенной вариабельности циркулирующих вирусов гриппа В и конкретизации представления о структуре иммунодоминантных сайтов в составе молекулы гемагглютинаина вирусов гриппа В Ямагатской и Викторианской линий.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор достоин присуждения искомой степени по специальности 03.02.02 – вирусология.

Отзыв обсуждён и одобрен на заседании кафедры микробиологии
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ,
протокол заседания № 1 от 11 января 2021 года.

Заведующий
кафедрой микробиологии
доктор медицинских наук, профессор



Гумилевский Борис Юриевич

Профессор
кафедры микробиологии
доктор медицинских наук, доцент



Малышев Владимир Васильевич