

ОТЗЫВ
официального оппонента на диссертационную работу
Шитикова Савелия Андреевича
на тему: «Клональная структура и динамика Т-клеточного ответа на
вирус SARS-CoV-2 после вакцинации Ad5-nCoV»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 3.2.7. «Иммунология»

Тяжелая пандемия COVID-19 закономерно потребовала ускоренной разработки и широкого применения вакцин против нового вида коронавируса. В условиях первой волны коронавирусной инфекции основным показателем действенности вакцинных препаратов было определение скорости и уровня выработки нейтрализующих антител. Вместе с тем полная характеристика эффективности вакцинации требует углубленного изучения как гуморального, так и клеточного ответа на ту или иную вакцину, а также длительности приобретаемой организмом иммунной защиты организма от вирусной инфекции. Именно такая, крайне актуальная тематика выбрана для диссертационной работы С.А.Шитикова, сосредоточенной на идентификации клонов Т-клеток, специфичных к Спайк-белку коронавируса SARS-CoV-2, и исследовании динамики Т-клеточного ответа на аденовирусную вакцину Ad5-nCoV в репрезентативной группе вакцинированных доноров.

Диссертационная работа составлена по плану, рекомендованному Положением о Совете по защите диссертаций, включает Введение с общей характеристикой работы, отдельных глав Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение результатов и Заключение, заканчивающееся формулировкой шести Выводов по результатам проведенного С.А.Шитиковым исследования, заканчивается разделами Благодарности, Список литературы с библиографическими ссылками на 139 цитируемых автором источников и Приложение. Объем представленной диссертации составляет 128 страниц, включая 26 рисунков и 6 таблиц.

В главе Обзор литературы диссертант критически рассматривает содержание наиболее значимых публикаций по нескольким критическим

аспектам реакции иммунной системы человека при коронавирусной инфекции и развитии/протекании COVID-19, включая особенность гуморального и Т-клеточного ответа на инфекцию SARS-CoV-2 у пациентов с различными формами и тяжестью заболевания; роль CD4+, CD8+, эпитоп-специфичных и кросс-реактивных популяций Т-клеток в формировании иммунной против-SARS-CoV-2 защиты организма. В отдельном подразделе обобщены актуальные сведения о структуре, векторной платформе и принципе действия применяемых вакцин от COVID-19. Одно из достоинств обзора состоит в том, что, наряду с цитированием оригинальных статей в ведущих научных изданиях, автор провел анализ результатов нескольких проспективных исследований, выполненных на многотысячных когортах пациентов с COVID-19. В целом, представленный обзор подчеркивает востребованность и освещает текущую проблематику исследований Т-клеточного ответа на противовирусную вакцинацию, что аргументированно обосновывает выбор цели и постановку задач диссертационной работы автора.

В методологической части диссертации – главе Материалы и методы – подробно охарактеризована когорта вакцинируемых доноров, представлена описанием и рисунком стратегия проведенного соискателем исследования и детально изложены экспериментальные процедуры, приемы статистической обработки и биоинформатического анализа получаемых результатов. Следует особо отметить, что при изложении методик пробоподготовки биоматериалов к высокопроизводительному секвенированию, культивирования Т-клеток, фракционирования клеточных культур диссертант в каждом случае дополнительно вводит описание систем контрольных образцов и экспериментов. Отдельные подразделы, например 2.3 Цитофлуориметрия или 2.9 HLA-генотипирование, содержат вместе с методиками рисунки с системой гейтирования или таблицы с результатами генотипирования. Использование широкого круга современных методов и приборов, скрупулезное изложение модификаций методик и систем

контролей отражают высокий уровень проведения диссертационного исследования, абсолютную достоверность полученных результатов и профессиональное мастерство соискателя.

В первой части главы Результаты автор подробно описывает историю создания оригинального экспериментального подхода к идентификации клонов Т-клеток, обладающих специфичностью к Спайк-белку. Новый подход заключается в параллельном применении двух независимых методологических приемов определения клональной экспансии в а) образцах периферической крови доноров до и после вакцинации и б) фракциях Т-клеток, продуцирующих γ -интерферон при антигенной стимуляции культур мононуклеаров. По результатам массивированного секвенирования и реконструкции репертуаров Т-клеточных рецепторов был убедительно продемонстрирован и *in vivo*, и *ex vivo* иммунный ответ CD4/CD8 Т-клеток на вакцину Ad5-nCoV. Научно значимым достижением стало также определение полугодовой динамики иммунного ответа и доказательство олигоклональности CD8(x) поликлональности CD4(x) Т-лимфоцитов, специфичных с Спайк-белку, кодируемому вакцинным препаратом. В следующей части исследования С.А.Шитиков провел оценку Т-клеточного ответа на вакцину в отношении к 13 экзогенных пептидов из состава Спайк-белка. В результате было выявлено и охарактеризовано 464 ранее неизвестных клонотипа Т-клеток со специфичностью к 11 эпитопам Спайк-белка. Причем 81 клонотип был детектирован в образцах крови доноров через 6 месяцев после вакцинации. Завершают главу результаты разностороннего биоинформатического анализа Т-клеточного ответа на Спайк-белок коронавируса. Анализ проведен с использованием данных собственного исследования в сравнении с международными депозитариями MIRA и VDJdb. Диссертанту удалось выявить наличие нескольких групп «публичных» клонотипов Т-клеточных рецепторов, характеризующих репертуары периферических Т-лимфоцитов лиц, перенесших заболевание COVID-19, и/или прошедших вакцинацию различными типами анти-SARS-

CoV-2 вакцин. По результатам проведенного анализа диссертантом подтверждена или вновь доказана иммунодоминантность нескольких эпитопов Спайк-белка коронавируса SARS-CoV-2, а также аргументировано предположена ассоциация отдельных групп публичных клонотипов и иных особенностей Т-клеточного ответа на однокомпонентную аденовирусную вакцину Ad5-nCoV с наличием у вакцинируемых лиц аллелей HLA-DRB1*15, HLA-A*24, HLA-B*18, HLA-C*12.

Изложение результатов проведенного исследования выгодно отличают близкая к абсолютной выверенность текста, логическая последовательность в решении поставленных задач и в экспериментальной проверке выдвигаемых гипотез, богатство и насыщенность иллюстративного материала, часть которого, конкретизирующая или дополняющая основные результаты, представлена в обширных Приложениях и соответствующих разделах второй главы. Полнота изложения, новизна и научная значимость результатов обеспечивают высокую обоснованность положений, выносимых на защиту, и полную корректность выводов диссертационной работы С.А.Шитикова.

Принципиальные замечания к содержанию диссертации у оппонента отсутствуют, но имеются некоторые нарекания к оформлению работы:

- 1) При исчезающе малом количестве опечаток ошибка в словосочетании «субъединица S1, обеспечивающей слияние вирусной и клеточной мембран.» (стр 17) вызывает недоумение;
- 2) На рисунках 2, 3 и 5 экспериментальные «точки» обозначены размытыми кругами неконтрастных цветов, что делает трудно различимыми тонкие линии, обозначающие значения медиан; при этом квартили подмножеств не указаны;
- 3) В легенде к рисунку 6 разными цветами указаны 3 вида клонотипов, но для всех образцов на диаграмме 6Б присутствуют лишь пары (1+2) или (1+3).

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени

М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 3.2.7. Иммунология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Шитиков Савелий Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор,
главный научный сотрудник, зав. лабораторией сравнительной и функциональной геномики ФГБУН Государственный Научный Центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемакина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН)

ЛЕБЕДЕВ Юрий Борисович

16.12.2024г. _____

Контактные данные:

тел.: +7(495)330-42-88, e-mail: lebedev_yb@ibch.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.00.03 «молекулярная биология»

Адрес места работы:

117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10
ФГБУН Государственный Научный Центр Российской Федерации Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемакина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН)
тел.: +7 (495) 335-01-00, e-mail: office@ibch.ru

«Подпись Ю. Б. Лебедева заверяю»

Ученый секретарь ГНЦ ИБХ РАН,
доктор физико-математических наук,
профессор

ОЛЕЙНИКОВ Владимир Александрович