

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Богомяковой Маргариты Евгеньевны
на тему: «Иммуногенность дифференцированных производных
плюрипотентных стволовых клеток человека»
по специальности 3.2.7. Иммунология**

Диссертационная работа Богомяковой Маргариты Евгеньевны посвящена актуальной проблеме современной регенеративной медицины, а именно исследованию иммунологической толерантности к различным клеточным продуктам, полученным из аллогенных стволовых клеток, связанной с модуляцией Т- и NK-клеточного ответа. Поскольку с разработкой «универсальных» клеточных продуктов для трансплантации связывают преодоление трудностей, ассоциированных с получением аутологичных материалов для клеточной терапии и регенеративной медицины, тема исследования представляется весьма важной и актуальной. Следует отметить, что область исследований, связанных с регенеративной медициной и клеточной терапией в некоторой степени дискредитирована большим числом публикаций сомнительного качества и присутствием на рынке разного рода «клеточных» препаратов, не обладающих заявленными свойствами и с недоказанной эффективностью. В отличие от такого рода работ оппонируемая диссертация представляет собой предельно строгое и скупное научное исследование, выполненное на самом высоком и современном методическом уровне. Методом геномного редактирования CRISPR/Cas9 автору удалось получить из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток здоровых доноров клеточные линии с биаллельным нокаутом гена бета-2-микроглобулина. Маргарита Евгеньевна подтверждает методом проточной цитометрии, что эти клетки лишены экспрессии бета-2-микроглобулина и HLA-I на поверхности. Таким образом, подобные клеточные линии могли бы стать «универсальным» клеточным продуктом, поскольку не имеют основных антигенов гистосовместимости. Действительно, далее Маргарита Евгеньевна показывает, что отсутствие

чужеродных молекул HLA-I достоверно снижает активацию аллогенных Т-клеток, несмотря на некоторую вариабельность среди разных доноров. Однако, в экспериментах с дегрануляцией натуральных киллеров эти клеточные линии и их производные оказались чувствительны к цитотоксическим свойствам НК-клеток независимо от экспрессии молекул HLA класса I. Таким образом, автор показывает, что только отсутствие экспрессии HLA-I на поверхности клеток не позволяет добиться снижения иммуногенности «универсального» клеточного продукта. Важную часть работы составляют также эксперименты по профилированию экспрессии генов НК-клеточных лигандов в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках и их производных. Маргарита Евгеньевна показывает, что НК-клеточный ответ при сокультивировании с дифференцированными производными индуцированных плюрипотентных стволовых клеток может быть обусловлен дисбалансом лигандов к активирующим и ингибирующим рецепторам НК-клеток. Важным результатом диссертации, имеющим не только фундаментальное научное значение, но и практическую ценность, являются данные, свидетельствующие о том, что отмеченный дисбаланс лигандов к активирующим и ингибирующим рецепторам НК-клеток может быть преодолен путем обработки клеточной культуры препаратом интерферона γ .

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из Введения, Обзора литературы, Материалов и методов, Результатов, Обсуждения результатов, Заключение, Выводов, Списка литературы и Благодарностей. Работа изложена на 120 страницах, богато иллюстрирована и содержит 37 рисунков, 5 таблиц и 2 приложения. Список процитированной литературы включает 247 источников. Работа написана хорошим литературным языком и почти не содержит опечаток и стилистических погрешностей (замечены на стр. 8 строка 5 снизу, стр. 32 строка 9, стр. 34 строка 5, стр. 60 строка 13 снизу, стр. 79 строка 1 снизу, стр. 83 строка 1 снизу, стр. 99 строка 11). Особого внимания заслуживает литературный

обзор, в котором дано подробное описание современного состояния разработок в области регенеративной медицины и клеточной терапии. Из литературного обзора логично вытекает постановка целей и задач оппонируемой диссертации. Последующие главы, содержащие описания методик и полученные результаты в целом написаны подробно и конкретно. Следует отметить, что некоторые весьма простые и понятные подходы описаны очень подробно и даже избыточно. В то же время описание достаточно сложных экспериментов и анализа соответствующих данных не столь исчерпывающее. В частности не совсем понятно, каким образом оценивалась статистическая значимость изменений (false discovery rate) в экспериментах, описанных в главе 3.4. В явном виде не указано сколько и каких профилей с какими сравнивали. Этот момент, учитывая сравнение множественных параметров на ограниченном числе случаев весьма критичен. Диссертация, вероятно, выиграла бы, если бы массивы данных, подвергнутых статистическому анализу были описаны в диссертации более конкретно.

В целом работа производит очень хорошее впечатление. Адекватность выбранных методических подходов и достоверность полученных результатов не вызывают никакого сомнения. Большинство данных получены и проанализированы лично соискателем. Результаты работы опубликованы в международных рецензируемых высокорейтинговых периодических научных изданиях и доложены на многочисленных научных конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Работа имеет безусловное значение для понимания механизмов иммуногенности дифференцированных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека. Кроме этого, полученные результаты могут иметь прикладную ценность в отношении разработки подходов для индукции толерантности к аллогенным клеточным продуктам. Высказанные замечания касаются в основном представления полученных результатов и не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает всем

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 Богомякова Маргарита Евгеньевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

заведующий отделом молекулярной генетики

Федерального государственного бюджетного учреждения

«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

СУДАРИКОВ Андрей Борисович

10 мая 2023

Контактные данные:

тел.: _____, e-mail: _____

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

14.01.21 - Гематология и переливание крови

Адрес места работы:

125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Тел.: +74956122123; e-mail: director@blood.ru

Подпись сотрудника НМИЦ гематологии
А.Б. Сударикова удостоверяю:
Первый зам. Генерального директора
НМИЦ Гематологии

Т.В. Гапонова

10 мая 2023