

## **ОТЗЫВ официального оппонента**

**на (о) диссертацию(и) на соискание ученой степени**

**кандидата биологических наук Зорниковой Ксении Викторовны**

**на тему: «Динамика гуморального и Т-клеточного иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2»**

**по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология**

### **Актуальность темы исследования**

В соответствии с заявленной целью в диссертационной работе было проведено глубокое исследование гуморального и Т-клеточного иммунного ответа против SARS-CoV-2 на когорте доноров (50 переболевших доноров и 19 здоровых доноров). Данная работа крайне актуальна в связи с пандемией COVID-19, которая оказывала и оказывает серьезное влияние на мировое здравоохранение, экономику и социальную сферу. Понимание механизмов иммунного ответа на SARS-CoV-2 и степени его устойчивости является критически важным для разработки эффективных вакцин и лечений, а также для понимания эволюции вируса и возможных сценариев его дальнейшего распространения. Кроме того, результаты работы могут быть использованы для оптимизации систем тестирования на наличие иммунного ответа, что поможет более точно определять распространенность заболевания и меры контроля над ним. В целом, данная работа имеет значительное практическое и фундаментальное значение. Актуальность работы не вызывает сомнений.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Поставленные в диссертационном исследовании задачи полностью соответствуют использованным в работе методам и подходам. Исследование проведено на высоком методологическом уровне. Надежность и достоверность полученных результатов не вызывает сомнения.

### **Научная новизна и значимость исследования**

Новизна исследования очевидна, что подтверждается публикацией результатов в высокорейтинговых научных журналах. Исследование динамики эпито-специфичного Т-клеточного иммунного ответа после перенесения инфекции COVID-19, а также определение характеристик Т-клеточного репертуара, специфичного к иммуногенным эпитопам вируса SARS-CoV-2, являются новыми достижениями в изучении иммунного

ответа на этот вирус. В исследовании было продемонстрировано, что сохранение иммунного ответа к SARS-CoV-2 в течение длительного времени зависит от клонального разнообразия первоначального ответа, а не от размера или определенного клонотипа в периферической крови пациента. Таким образом, поликлональность иммунного ответа к SARS-CoV-2 может иметь важное значение для защиты организма от повторных инфекций и для формирования длительного иммунитета. Автором делается вывод, что вирус-специфичные Т-клетки могут служить более долгосрочным и надежным маркером перенесенной инфекции COVID-19, чем антитела.

### **Оценка структуры, содержания и оформления диссертации**

Диссертационная работа изложена на 113 страницах и имеет традиционную структуру. Список литературы включает 170 источника. Диссертация содержит 21 рисунок и 3 таблиц в основной части и 3 таблицы в приложении.

В целом диссертационная работа имеет законченный характер. Результаты работы опубликованы в высокорейтинговых журналах.

Во введении Зорникова Ксения Викторовна определила актуальность проведенного исследования, его новизну, теоретическую и практическую значимость, и привела основные положения, выносимые на защиту диссертации, указала личный вклад в работу. Цель и задачи сформулированы четко и понятно.

Обзор литературы включает две основные части, посвященные гуморальному и Т-клеточному иммунному ответу на SARS-CoV-2 вирусную инфекцию. Далее в Главе “Специфичность кластеризации ТКР, основанной на сходстве последовательностей” рассмотрены современные биоинформатические подходы к поиску антиген-специфичных Т-клеточных рецепторов, но написана весьма лаконично, основные принципы описаны. В Литературном обзоре формулируются проблемы, которые далее затрагиваются в работе: “могут ли Т-клетки памяти, сформировавшиеся после инфекции SARS-CoV-2 или вакцинации, обеспечить защиту от повторного заражения”, а также “насколько разнообразие и/или размер репертуара влияют на длительность персистенции Т-клеток памяти остается малоизученным вопросом”.

В главе «Материалы и методы» описаны объекты исследования и применяемые методики. Подробно описаны такие методики, как постановка ELISPOT, сборка растворимых HLA, выделение РНК. Приведены таблицы с описанием доноров и результатами их HLA-типирования, а также перечень пептидов, которые использовались в качестве антигенной стимуляции в экспериментах. Анализ данных секвенирования ТКР библиотек описан крайне лаконично. Указывается, что

анализ проводился с настройками по умолчанию, что не вносит ясности. Изложение результатов занимает около 30 страниц и сопровождается качественными рисунками. Описание результатов начинается с оценки устойчивости и корреляции гуморального и клеточного иммунного ответа на SARS-CoV-2 у переболевших доноров. Далее автор фокусируется на анализе эпитоп-специфичного Т клеточного иммунитета у части переболевших и здоровых доноров. Автором проделана большая работа, которая включает сборку и тестирование более десятка меченых HLA-пептидных комплексов, клеточную сортировку с использованием меченых тетрамеров и анализ данных секвенирования. Так как детальная информация по построению кластеров отсутствует, возникает закономерный вопрос, строились ли кластеры клонотипов с учетом или без V- и J- сегментов? Если нет, может ли автор прокомментировать вероятность влияния разных V-сегментов при одинаковых CDR3 на специфичность Т-клеточного рецептора? Какие предположения, почему некоторые эпитопы вызывают более публичный ответ, чем другие?

На основании полученных результатов автором сформулированы четыре вывода, которые полностью соответствуют задачам диссертационного исследования, положениям, выносимым на защиту и отражают основное содержание работы. По теме диссертации опубликовано 5 статей в высокорейтинговых журналах, три из которых с импакт-фактором выше 20, что подтверждает высокий уровень работы.

К оформлению диссертационной работы есть ряд замечаний:

1. В обзоре литературы содержится всего одна иллюстрация, описывающая жизненный цикл вируса SARS-CoV-2, а в главе 1.3. “Репертуар Т-клеточных рецепторов” нет ни одной и в целом рубрика, описывающая формирование Т клеточного рецептора и разнообразие репертуара, написана очень сжато, не формулируется целостное представление о разнообразии репертуара ТКР.
2. Не смотря на то что основная часть исследования связана с изучением ответа CD8+ Т лимфоцитов на SARS-CoV-2, тем не менее в Литературном обзоре глава “Иммунный ответ CD4+ Т-клеток при COVID-19” посвящена Th1 и Th2 типу иммунного ответа. Однако роль Th1 и Th2 рассмотрена достаточно поверхностно. На мой взгляд, существует достаточно данных, указывающих на протективный характер Th1 иммунного ответа при COVID-19 и более тяжелое течение заболевания при сдвиге в сторону Th2.
3. В работе содержатся некоторые орфографические ошибки и опечатки. Есть несколько странные формулировки: “интересная когорта людей”, “берут какую-то меру расстояния” стр 34.
4. В главе Материалы и методы указано программное обеспечение, использованное для анализа репертуаров ТКР (MIXCR, MIGEC), но нет ссылок на первоисточники (ссылка на сайт с доступом для

скачивания данных программ или оригинальные публикации авторов этих программ). В рубрике “Синтез комплементарной ДНК (кДНК)” нет пояснения, для каких образцов приводятся условия постановки реакции в начале рубрики.

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 Зорникова Ксения Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

**Официальный оппонент:**

Кандидат биологических наук,

по специальности «Молекулярная биология»,

Руководитель Группы структурной организации Т-клеточного иммунитета, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

**Британова Ольга Владимировна**

Подпись Британовой Ольги Владимировны заверяю:

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт  
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.  
Овчинникова Российской академии наук**

**117997, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10**

**Сайт организации: <https://www.ibch.ru/>**