

ОТЗЫВ

**официального оппонента Кулемзина Сергея Викторовича
на диссертацию Шитикова Савелия Андреевича**

«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

К концу 2024 года пандемия COVID-19 утратила первостепенную значимость, тем не менее за последнюю неделю ноября 2024 года в РФ было выявлено более 20000 инфицированных SARS-CoV-2 пациентов, а регулярное появление новых вариантов позволяет предполагать, что инфекция SARS-CoV-2 будет иметь волновую динамику в человеческой популяции, типичную для некоторых других респираторных вирусов. Помимо непосредственно борьбы с пандемией, научные работы, посвященные изучению SARS-CoV-2, имеют большое значение для формирования новых представлений о работе противовирусного иммунного ответа в целом. В связи с этим, значительную **актуальность** имеет представленная к защите диссертационная работа. Савелий Андреевич изучил формирование Т-клеточного иммунного ответа в ответ на вакцинацию наивных доноров аденовирусной вакциной, кодирующей Спайк-белок SARS-CoV-2. Для этого он исследовал интенсивность и длительность Т-клеточного ответа; выявил Т-клеточные клонотипы, распознающие Спайк-белок, и оценил динамику их персистенции; проанализировал репертуар клонотипов характерных для CD4+ и CD8+ лимфоцитов. Все эти работы были сделаны на материале, полученном от когорты из 69 добровольцев, участвовавших в 3 фазе клинического исследования однократно вводимой вакцины Ad5-nCoV (CanSino Biologics Inc). **Высокая обоснованность** положений, выносимых на защиту Савелием Андреевичем обусловлена прекрасно продуманными экспериментами, построенными на основе самых современных методов молекулярной и клеточной биологии, и опирающимися на детальный биоинформатический анализ. Савелий Андреевич предсказуемо обнаружил, что вакцина Ad5-nCoV вызывает иммунный ответ на Спайк-белок вируса SARS-CoV-2 со стороны

CD4+ и CD8+ Т-клеток, при этом, на пике Т-клеточного ответа после вакцинации количество Спайк-специфичных CD8+ Т-клеток в периферической крови значительно выше, чем число CD4+ Т-клеток с такой же специфичностью. Особенно интересен тот факт, что CD4+ Т-клеточный ответ при этом поликлональный, а CD8+ — олигоклональный. Это наблюдение очень интересно, так как ряд предыдущих работ на различных респираторных вирусах указывает на высокую значимость в первую очередь CD4+ клеток. Автор обсуждает высокую значимость CD4+ клеток, как одного из индукторов гуморального иммунного ответа, при этом высокая гетерогенность Спайк-специфичных CD4+ клеток хорошо согласуется со значительной гетерогенностью Спайк-специфичных антител. Исследование когорты пациентов через 6 месяцев после иммунизации показало, что только 10% Спайк-специфичных клонотипов выявляются при повторной стимуляции антигеном.

На основании проведенных исследований Савелий Андреевич делает полностью обоснованные выводы относительно динамики Спайк-специфичного Т-клеточного иммунного ответа и отличиях в репертуарах ТКР между CD4+ и CD8+ Т-клетками. Не вызывает сомнений и практическая значимость работы. Савелий Андреевич указывает на крайне высокую иммунодоминантность пептида NYNYLYRLF (аминокислотные остатки Спайк-белка с 448 по 456), что особенно важно для дальнейших работ в области разработки вакцин против SARS-CoV-2.

Достоверность работы подтверждается, во-первых, значительным размером выборки пациентов, во-вторых использованием взаимодополняющих методов молекулярной и клеточной биологии, в третьих сопоставимостью полученных Савелием Андреевичем данных с ранее опубликованными результатами. **Новизна** представленной работы также не вызывает сомнений, так как для вакцины Ad5-nCoV ранее не проводилось настолько углубленных исследований динамики Т-клеточного иммунного ответа с привлечением секвенирования ТКР от большого числа доноров.

Текст диссертации хорошо структурирован, содержит много первичных данных, включает детальное описание методов и сопоставление полученных результатов с ранее опубликованными данными.

Диссертация «Клональная структура и динамика Т-клеточного ответа на вирус SARS-CoV-2 после вакцинации Ad5-nCoV» по актуальности, научной новизне, научно-практической значимости и достоверности полученных результатов соответствует специальности 3.2.7. «Иммунология», а именно следующим её направлениям: 2. Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии; 3. Изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты; 9. Разработка и усовершенствование методов оценки качества постинфекционного и поствакцинального иммунитета, эффективности и безопасности новых вакцинных препаратов.

В качестве некоторой полемики хочу указать, что использованный автором подход — отбор пациентов с более высоким Т-клеточным ответом для последующего анализа репертуаров ТКР, с одной стороны объясним (с позиций технического удобства проведения экспериментов), с другой стороны сужает круг потенциально интересных ТКР. Можно предположить, что подгруппа доноров с не высоким Т-клеточным ответом может иметь общие особенности (например, схожие Спайк-специфичные ТКР, вызывающие субоптимальную стимуляцию Т-клеток), и эти данные также могут иметь значение для дальнейшей разработки оптимальных вакцин.

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:

кандидат биологических наук,

старший научный сотрудник лаборатории инженерии антител, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКБ СО РАН)

Кулемзин Сергей Викторович

6 декабря 2024

Контактные данные:

тел.: 7(383)363-90-72, e-mail: skulemzin@mcb.nsc.ru

оппонентом защищена диссертация по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика

Адрес места работы: 630090, г. Новосибирск, пр-т академика Лаврентьева 8/2, комната 420, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКБ СО РАН), лаборатория инженерии антител

тел.: 7(383)363-90-72, e-mail: skulemzin@mcb.nsc.ru