

УТВЕРЖДАЮ

Директор НИИФКИ, доктор
биологических наук



А.Н. Силков

«20» апреля 2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» о научно-практической ценности диссертационной работы Подлесных Степана Васильевича на тему **«Исследование репертуара циркулирующих антител и белок-белковых взаимодействий с использованием пептидных микрочипов»**, представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Подлесных Степана Васильевича посвящена изучению изменений репертуара циркулирующих антител в плазме крови пациентов с диагностированным раком молочной железы (РМЖ), а также поиску пептидов, способных взаимодействовать с молекулой CTLA-4, как потенциальных иммунотерапевтических агентов.

На протяжении многих лет рак молочной железы остается ведущей онкопатологией у женского населения России. При этом, согласно данным Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена, уровень смертности от данного типа рака среди женщин сохраняет за собой первое место. Исследование иммунного ответа на опухолевые антигены через продукцию аутоантител представляет собой многообещающий подход для ранней диагностики рака. Для сравнения репертуара циркулирующих антител в плазме здоровых доноров и пациентов с РМЖ автор использовал микрочипы, содержащие более 300 тыс. пептидов со случайными аминокислотными последовательностями. Эти же микрочипы

были использованы для выявления пептидов, взаимодействующих с CTLA-4 молекулой, участвующей в подавлении иммунного ответа. Таким образом, используя одну инновационную технологическую платформу (пептидные микрочипы) автор получил результаты, которые помогут решить две актуальные задачи: разработка диагностических инструментов и создание новых лекарственных средств.

Научная новизна исследования

С помощью пептидных микрочипов, содержащих 330034 пептида, впервые был проведён сравнительный анализ репертуара антител (иммуносигнатур), в плазме крови человека в норме и при злокачественных новообразованиях молочной железы. Выявлены пептиды, которые показали статистически значимое отличие при реакции с антителами в образцах крови больных РМЖ и здоровых доноров.

Впервые также выявлены и показаны особенности репертуара антител у пациентов с разными молекулярными подтипами РМЖ. Таким образом, с помощью микрочипов впервые определены последовательности и структура пептидов (мимотопов), которые взаимодействуют с антителами плазмы крови и могут быть использованы при разработке диагностических тест-систем.

Впервые определено, что пептиды, взаимодействующие с плазмой РМЖ пациентов имеют характерные аминокислотные мотивы, что говорит о специфическом иммунном ответе против определенных антигенов. Более того, многие из выявленных пептидов гомологичны белкам, участвующим в развитии опухолей.

Впервые с помощью пептидных микрочипов определены пептиды, специфически взаимодействующие с молекулой CTLA-4, участвующей в регуляции иммунитета. Для одного пептида группы синтетических пептидов показана способность блокировать взаимодействие рецептора CTLA-4 с его естественным лигандом В7-1. Выявленные пептиды могут быть использованы в иммунотерапии онкологических и инфекционных заболеваний при разработке лекарственных препаратов для усиления функциональной активности Т-лимфоцитов.

Обоснованность и достоверность полученных результатов

Цели и задачи, сформулированные автором исследования, выполнены полностью. Достоверность полученных результатов подтверждается

статистической обработкой данных с использованием корректно подобранных критериев и тестов. Полученные результаты были подвергнуты корректной статистической обработке. Положения, выносимые на защиту, в полной мере подтверждены полученными результатами. Выводы основываются на фактически полученном автором материале, логически вытекают из полученных результатов и отражают суть проведенного экспериментального исследования.

Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на всероссийских и международных научных форумах и конференциях и представлены в 20 публикациях (статьи, тезисы, РИД) – 11 учитываемых ВАК, из них 5 статей в базах научного цитирования Scopus и Web of science.

Значимость результатов для науки и практики

Работа Подлесных С.В. имеет важное фундаментальное и прикладное значение для молекулярной биологии, биохимии, онкологии и иммунологии, патологической физиологии, клинической лабораторной диагностики, а также иммунотерапии онкологических и других иммунозависимых заболеваний. Полученные результаты формируют и расширяют представление о возможности использования анализа репертуара циркулирующих антител для диагностики онкологических заболеваний. Использование массива случайных пептидных эпитопов, представленных на микрочипе, позволяет исследовать репертуар антител без предварительного выделения антигена, что является важным для диагностики гетерогенных опухолей и, вероятно, для диагностики новых, ранее не известных науке, инфекционных заболеваний.

Применение микрочипов с пептидами, расширяет методологию для поиска новых низкомолекулярных соединений, способных модулировать функцию белков, и может способствовать разработке новых препаратов для терапии различных заболеваний. Созданный и оптимизированный алгоритм, может быть применён для поиска пептидов, взаимодействующих с молекулами-мишенями, при создании лекарственных препаратов для персонализированного лечения различных заболеваний.

Практическая значимость проведенных исследований состоит в использовании, выявленных с помощью микрочипов пептидов при разработке тест-систем для ранней диагностики (скрининга) рака молочной железы и определения молекулярных подтипов РМЖ не инвазивными методами, для последующего выбора эффективной терапии. Аналогичный

подход, может быть применён для выявления опухолей иной этиологии и патогенеза.

Пептиды, которые специфически связываются с молекулой CTLA-4 и блокируют ее взаимодействие с лигандом В7-1, могут приводить к усилению иммунного ответа. Это феномен может быть использован для разработки лекарственных препаратов, для иммунотерапии онкологических и других иммунозависимых социально значимых заболеваний.

Структура и общая характеристика работы

Диссертационная работа С.В. Подлесных изложена на 203 страницах машинописного текста. Структура диссертации традиционна и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы, посвященной результатам собственного исследования, обсуждения результатов, заключения, выводов и списка литературы. Основные главы выдержаны в объеме и пропорциях. Работа содержит 38 рисунков и 9 таблиц. Библиографический список включает 287 источников, из них 222 зарубежных.

Во введении автором приведены обоснованные сведения об актуальности данного исследования, сформулированы цели и задачи, представлены положения, выносимые на защиту, отмечены научная новизна работы, ее теоретическая и практическая значимость, степень достоверности результатов.

Глава «Обзор литературы» состоит из двух частей. В первой части соискатель подробно анализирует современные представления об особенностях молекулярной природы рака молочной железы, методов его диагностики и описывает возможность использования циркулирующих антител в качестве альтернативных биомаркеров. Вторая часть обзора литературы посвящена современным представлениям о молекулах контроля иммунного ответа и иммунотерапии опухолей. Следует отметить, что обзор представлен достаточно большим количеством иностранных источников.

Во второй главе представлена характеристика клинического материала, подробно изложены используемые методы клинических, гистологических, иммунологических и протеомных исследований. Также описаны методы биоинформатики и статистической обработки результатов. Автор использовал современные методы, которые позволили достичь поставленных целей и выполнить необходимые задачи.

В третьей главе С.В. Подлесных описывает результаты собственных исследований и их обсуждение. Все результаты исследований в достаточном

объёме проиллюстрированы таблицами и рисунками. Цели и задачи исследования достигаются с помощью разностороннего подхода к изучению проблемы. В частности, проведено сравнение репертуара антител у пациентов и здоровых доноров с помощью пептидных микрочипов, сравнение взаимодействия антител с микрочипами у пациентов с различными молекулярными подтипами РМЖ, проведен анализ гомологии выявленных пептидов опухоль-ассоциированных антигенов, приводится детальная характеристика пептидов, взаимодействующих с CTLA-4 и их 3D-моделирование.

Работа содержит некоторое количество опечаток и пунктуационных ошибок, не влияющих на понимание смысла написанного. Описанные результаты получены с использованием адекватных методических решений, поставленные задачи решены в полном объеме. В заключении подробно представлены и проанализированы все результаты диссертации. Выводы работы полностью соответствуют представленным результатам. После выводов автор описывает перспективы и практические рекомендации.

Автореферат составлен в необходимом объеме, содержит основные характеристики работы, ее результаты и выводы. Все основные положения автореферата соответствуют разделам машинописного варианта диссертации.

Таким образом, представленная к защите диссертация является законченной работой, в которой решены все поставленные задачи.

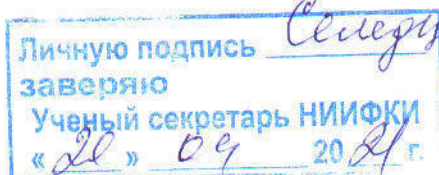
Заключение

Диссертационная работа Подлесных Степана Васильевича «Исследование репертуара циркулирующих антител и белок-белковых взаимодействий с использованием пептидных микрочипов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов полностью соответствует критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 2 августа 2016 года, № 650 от 29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года, № 1168 от 1 октября 2018 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата

наук, а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Отзыв заслушан, обсужден, и одобрен на заседании отдела экспериментальной иммунологии НИИФКИ, протокол №2 от 20 апреля 2021 года.

Селедцова Галина Викторовна,
д-р мед. наук, заведующая лабораторией
клеточных биотехнологий НИИФКИ
специальность 14.03.09 – клиническая
иммунология, аллергология



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт фундаментальной и
клинической иммунологии»

630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14

Тел. +7(383) 222-26-74

e-mail: info@niikim.ru