

ОТЗЫВ

официального оппонента Невинского Г.А. на диссертационную работу Чикаева Антона Николаевича «Пептиды-имитаторы эпитопов ВИЧ-1, узнаваемых нейтрализующими антителами широкого спектра действия», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология»

Диссертационная работа Чикаева А.Н. посвящена поиску и характеристике пептидов-имитаторов эпитопов ВИЧ-1, узнаваемых нейтрализующими антителами широкого спектра действия. Данная работа является актуальной в связи продолжающимся ростом распространения ВИЧ-инфекции. Сегодня, 34 года спустя после регистрации первых случаев СПИДа в 1981 г., можно с уверенностью констатировать, что масштабные национальные и международные программы по профилактике и лечению СПИДа недостаточно эффективны, поскольку эпидемия в ряде регионов не только не снижается, а имеет тенденцию к росту. По данным ВОЗ, в настоящий период в мире насчитывается около 35 млн. человек, живущих с ВИЧ-1. В России зарегистрировано более 900 тыс. инфицированных, при этом с каждым годом отмечается прирост новых случаев. В связи с этим совершенно очевидно, что назрела острая необходимость новых профилактических подходов и технологий, которые позволили бы повысить эффективность контроля над распространением эпидемии СПИДа. Несомненно, большой интерес представляет создание антигенов, способных индуцировать антитела, обладающие нейтрализующей активностью в отношении широкого спектра изолятов ВИЧ-1.

Диссертация построена классически. Она изложена на 118 страницах, содержит 20 рисунков, 13 таблиц и состоит из стандартных разделов: Общая характеристика работы, Обзор литературы, Материалы и Методы, Результаты и обсуждение, Заключение и Выводы. Список цитируемой литературы содержит 184 ссылки.

В главе «Введение» автор кратко излагает состояние вопроса в области изучения нейтрализующих ВИЧ-1 антител широкого спектра действия, обосновывает актуальность и важность исследования по выбранной теме диссертации, формулирует цель и те задачи, которые необходимо решить для достижения поставленной цели.

В главе «Обзор литературы» автор излагает современное состояние знаний о строении вируса иммунодефицита человека. Рассматриваются проблемы, возникающие на пути создания эффективного средства против ВИЧ-инфекции. Анализируются разные стратегии создания вакцин против ВИЧ-1. Дается характеристика широконейтрализующих антител. Отдельное внимание уделяется подходам к решению задачи создания эффективного иммуногена, обеспечивающего индукцию антител широкого спектра действия. Описываются принципы фагового дисплея и применение данной технологии для изучения антигенной структуры белков ВИЧ-1, а также для исследования нейтрализующих антител широкого спектра действия. Автор достаточно полно освещает опубликованную информацию по теме работы. Обзор написан четко, хорошим языком.

В разделе "Материалы и методы" подробно описан широкий спектр методик, использованных автором в работе, включая молекулярно-биологические, микробиологические и иммунологические. Используемые в работе методы зачастую весьма трудоемки, требуют большой аккуратности и тщательности, что свидетельствует о высоком уровне квалификации соискателя.

В главе "Результаты и обсуждение" четко описана организация проведения данного исследования. Диссертант провел аффинную селекцию фаговых библиотек с моноклональными антителами VRC01, Z13e1, IgG1b12 и анализ отобранных фаговых клонов. Охарактеризовал антигенные свойства отобранных бактериофагов. Оценил способность отобранных фаготопов конкурировать с перечисленными МКА за связывание с узнаваемыми им эпитопами. Осуществил компьютерный анализ аминокислотных последовательностей пептидов, взаимодействующих с антителом VRC01. Построил модель взаимодействия комплекса VRC01-gp120 и пептидов, входящих в состав селектированных бактериофагов. Оценил нейтрализующую активность сывороток животных, иммунизированных препаратами бактериофагов.

В диссертации представлены данные, которые позволяют утверждать, что диссертант успешно справился с поставленными задачами. Диссертант продемонстрировал, что аффинная селекция фаговых пептидных библиотек

позволяет отобрать клоны, специфично взаимодействующие с нейтрализующими ВИЧ-1 антителами широкого спектра действия Z13e1, IgG1b12 и VRC01. Бесспорным украшением работы служит построенная с помощью компьютерного дизайна модель взаимодействия комплекса VRC01-gp120 и пептидов, входящих в состав селектированных бактериофагов, которая показала, что отобранные бактериофаги экспонируют пептиды, которые имитируют фрагмент петли gp120, связывающейся с CD4-рецептором. Продемонстрировал, что отобранные пептиды-имитаторы способны подавлять нейтрализующую активность антител VRC01 в реакции конкурентного ингибирования. Показал, что сыворотки лабораторных животных, иммунизированных пептидами-миметиками в контексте бактериофагов, обладают нейтрализующей активностью в отношении псевдотипированных вирусов, полученных на основе различных штаммов ВИЧ-1.

Диссертантом проделана объёмная и достаточно сложная в методическом исполнении работа. Исследования выполнены с применением современных методов молекулярной биологии, включая компьютерное моделирование.

В целом, диссертация лишена каких-либо существенных недостатков. К недостаткам работы следует отнести небольшие погрешности в оформлении работы: это касается отсутствия некоторого числа запятых, не совсем удачных фраз и выражений. Например, вывод 4 “Выявлены пептиды, способные конкурировать с ВИЧ-1 (NL4-3) за связывание с антителами IgG1b12 и VRC01 в реакции вируснейтрализации” правильной бы было закончить “в реакции нейтрализации вируса”. Тем не менее, эти замечания не умаляют достоинств диссертационной работы

Диссертационная работа в целом представляет собой законченное исследование. Работа выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровнях. Основное содержание диссертационной работы позволяет решить поставленную автором проблему. Достоверность представленных в диссертации результатов и выводов не вызывают сомнений. Все выводы подтверждены экспериментальным материалом. Положения, выносимые на защиту полностью отражены в материалах диссертации. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Полученные результаты очень важны с точки зрения практического применения: полученные пептиды-имитаторы могут быть использованы для конструирования искусственных иммуногенов, индуцирующих антитела против

широкого спектра изолятов вируса иммунодефицита. Кроме того, пептиды-миметики можно будет использовать и для выявления ВИЧ-специфических антител.

Публикации по теме диссертации хорошо отражают ее содержание: четыре статьи в научных журналах, 14 тезисов на Российских и международных конференциях.

Диссертационная работа диссертационная работа Чикаева Антона Николаевича «Пептиды-имитаторы эпитопов ВИЧ-1, узнаваемых нейтрализующими антителами широкого спектра действия» является законченной научно-квалификационной работой, которая как по содержанию, так и по оформлению соответствует установленным ВАК РФ (п. № 9 "Положения о порядке присуждения учёных степеней") требованиям к кандидатским диссертациям, а сам диссертант достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Официальный оппонент

доктор химических наук, профессор
заведующий Лабораторией ферментов репарации

Института химической биологии и фундаментальной медицины



Г.А. Невинский

“ 30” апреля 2015 г.

- Невинский Георгий Александрович
- Новосибирск 630090, проспект Лаврентьева, 8
- Тел. +7-383-363-5126,
- nevinsky@niboch.nsc.ru
- Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН
- доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией

