

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Беловежец Татьяны Николаевны «Оценка эффективности CAR T- и CAR NK-клеток в доклинических моделях В-клеточных онкогематологических заболеваний человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «1.5.3. Молекулярная биология».

Диссертационная работа Беловежец Т.Н. посвящена созданию и анализу активности *in vitro* и *in vivo* CAR T-клеток, нацеленных против поверхностных маркеров В-клеток человека, белков CD20 и CD19, а также исследованию возможности использования NK-клеточных линий человека в качестве носителей CAR. Множество исследовательских групп и компаний по всему миру активно работают над увеличением доступности, повышением эффективности и снижением токсичности CAR-терапии, в то время как в Российской Федерации подобные исследования в настоящее время ограничены всего лишь 5-6 центрами. Для российских пациентов с онкогематологическими заболеваниями В-клеточного генеза, устойчивыми к существующим одобренным линиям терапии, возможность получения CAR T-клеточной терапии крайне ограничена, соответственно расширение набора высокоактивных CAR и переход к универсальному формату CAR-терапии являются приоритетными направлениями исследований, что в свою очередь делает тему представленной работы высоко актуальной.

Для достижения поставленной автором цели были созданы варианты моно- и биспецифических CAR, проведен анализ их активности и свойств *in vitro*, а также для некоторых конструкций исследования *in vivo*. Кроме этого, были получены и охарактеризованы в тестах *in vitro* и *in vivo* CD20-специфические CAR NK-клеточные продукты, исследована возможность использования новой фермент-субстратной пары на основе h-целентеразина/люциферазы Nluc для проведения прижизненной визуализации раковых клеток в мышцах и предпринята попытка создать и сравнить так называемые «усиленные» CAR NK-клетки человека, несущие активационно-индуцируемые промоторные модули.

Показано, что созданный CD20-специфический CAR на основе последовательностей человеческого антитела 2F2 обладает *in vitro* активностью, сопоставимой с CAR на основе мышинных антител Leu16 и 1F5. В эксперименте *in vivo* этот CAR также не отличается достоверно от Leu16-CAR и 1F5-CAR, что открывает возможности как для дополнительной оптимизации структуры 2F2-CAR, так и для проведения расширенных доклинических испытаний и переходу к клиническим испытаниям. Показано, что среди нескольких форматов

CAR T-клеток, способных узнавать сразу две мишени – CD19 и CD20 – наибольшим трансляционным потенциалом обладают дуальные CAR T-клетки, на поверхности которых находится два независимых CAR, в то время как протестированные биспецифические CAR обладают скромной цитотоксической активностью. Весьма неожиданной находкой автора является то, что *in vivo* наибольшей противоопухолевой активностью обладает НК-клеточная линия КНУГ-1, экспрессирующая CD20-специфический CAR, а вовсе не популярная во всем мире линия NK-92, с различными вариантами которой в настоящее время проводится наибольшее число клинических испытаний. Этот результат наглядно показывает, что потенциал НК-клеточных линий раскрыт еще не в полной мере и что создание новых клеточных носителей в качестве универсальных CAR НК-клеточных платформ является многообещающим направлением современной клеточной терапии. Автором показано, что выбранные ей промоторные модули не обладают необходимым уровнем CAR-индуцируемой активности в НК-клеточных линиях на основе NK-92 и YT. Наконец, убедительно продемонстрировано то, что протестированная фермент-субстратная пара h-целентеразин/Nluc является удобной и надежной комбинацией, значительно упрощающей проведение прижизненной визуализации распределения опухолевых клеток в организме лабораторных животных. Таким образом, работа Беловежец Т.Н. отличается несомненной новизной и высокой значимостью результатов для развития экспериментальной и прикладной онкоиммунологии и клеточной иммунотерапии.

В автореферате встречаются некоторые неточности:

- в разделе «Степень разработанности проблемы» CAR-экзосомы ошибочно отнесены к альтернативным клеточным платформам;
- в разделе 1.5 не описано, чем различаются конструкции dualCAR и dualCAR-2P, а при описании цитотоксичности перепутаны *revbiCAR* и *dualCAR_2P*, что затрудняет восприятие результатов.

Несмотря на эти частные замечания, работа производит очень хорошее впечатление. Она выполнена на высоком научном уровне, результаты апробированы в докладах на 11 конференциях и опубликованы в 5 статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в международные базы цитирования Web of Science и Scopus.

По своей актуальности, значимости и новизне полученных результатов рассматриваемая диссертационная работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук согласно пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в

редакции с изменениями, утвержденными постановлениями Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, от 2 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 1 октября 2018 г. № 1198), а ее автор Беловежец Татьяна Николаевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Ведущий научный сотрудник
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,
д.б.н. (1.5.3, 1.5.10)

Г.В. Кочнева

Подпись Г.В. Кочневой заверяю
Врио ученого секретаря
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
к.б.н.



О.В. Прыткова

Кочнева Галина Вадимовна, доктор биологических наук (1.5.3, 1.5.10),
Ведущий научный сотрудник Федерального бюджетного учреждения науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора),
630559 Новосибирская обл., р.п. Кольцово, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Раб. Тел. (383) 363-47-00 доп. 23-49
Сот. +7-923-122-5560
E.mail: kochneva@vector.nsc.ru