

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,

созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 26 февраля 2020 г. № 5

О присуждении **Егорову Евгению Станиславовичу**, гражданину Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Возрастные изменения в структуре репертуаров Т-клеточных рецепторов наивных Т-лимфоцитов» по специальности 03.01.03 (Молекулярная биология) принята к защите 30.10.2019 г., протокол №19 Диссертационным советом Д 002.019.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, (117997, г. Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15 февраля 2013 года).

Соискатель Егоров Евгений Станиславович 1992 года рождения, в 2014 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова.

С 2014 года по 2018 год обучался в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН). В настоящее время работает в должности научного сотрудника в Группе структурной организации Т-клеточного иммунитета Отдела геномики адаптивного иммунитета ИБХ РАН. Диссертация выполнена в Группе структурной организации Т-клеточного иммунитета Отдела геномики адаптивного иммунитета ИБХ РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Британова Ольга Владимировна, руководитель Группы структурной организации Т-клеточного иммунитета Отдела геномики адаптивного иммунитета ИБХ РАН.

Научный консультант – доктор биологических наук, Чудаков Дмитрий Михайлович, заведующий Отделом геномики адаптивного иммунитета ИБХ РАН.

Официальные оппоненты:

Казанский Дмитрий Борисович – доктор биологических наук, профессор, заведующий Лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национального медицинского исследовательского центра онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Касьянов Артем Сергеевич – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории №19 Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук (ИППИ РАН)

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России (ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России), г. Москва, в своем *положительном* заключении, подписанном д.б.н. Кофиади Ильей Андреевичем, и.о. заведующего лабораторией молекулярной иммуногенетики ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, и утвержденном чл.-корр. РАН, проф., д.м.н. Хаитовым Мусой Рахимовичем, директором ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, отметила, что диссертация Егорова Е.С. является научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных исследований решены задачи, важные для молекулярной биологии, и указала, что диссертационная работа Егорова Евгения Станиславовича полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335), а автор достоин присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.01.03 – Молекулярная биология».

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 7 работ, объемом 6 печ.л., опубликованных в рецензируемых научных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы по теме диссертации, в которые Е.С. Егоров внес основной вклад, включают:

1. Egorov ES, Kasatskaya SA, Zubov VN, Izraelson M, Nakonechnaya TO, Staroverov DB, Angius A, Cucca F, Mamedov IZ, Rosati E, Franke A, Shugay M, Pogorelyy MV, Chudakov DM, Britanova OV. The Changing Landscape of Naive T Cell Receptor Repertoire With Human Aging. *Front Immunol.* 2018 Jul 24; 9:1618. doi: 10.3389/fimmu.2018.01618.

2. Britanova OV, Shugay M, Merzlyak EM, Staroverov DB, Putintseva EV, Turchaninova MA, Mamedov IZ, Pogorelyy MV, Bolotin DA, Izraelson M, Davydov AN, Egorov ES, Kasatskaya SA, Rebrikov DV, Lukyanov S, Chudakov DM. Dynamics of Individual T Cell

Repertoires: From Cord Blood to Centenarians. J Immunol. 2016 Jun 15;196(12):5005-13. doi:10.4049/jimmunol.1600005.

3. Egorov ES, Merzlyak EM, Shelentov AA, Britanova OV, Sharonov GV, Staroverov DB, Bolotin DA, Davydov AN, Barsova E, Lebedev YB, Shugay M, Chudakov DM. Quantitative profiling of immune repertoires for minor lymphocyte counts using unique molecular identifiers. J Immunol. 2015 Jun 15;194(12):6155-63. doi: 10.4049/jimmunol.1500215.

4. Егоров Е.С., Израельсон М.А., Касацкая С.А., Чудаков Д.М., Лукьянов С.А. Количественный и безошибочный анализ данных массивированного секвенирования с использованием молекулярного баркодирования. Вестник РГМУ. 2015. № 4. С. 4-9.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Отзыв официального оппонента д.б.н., профессора **Казанского Дмитрия Борисовича**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1. Диссертант, на мой взгляд, чрезмерно увлекается, утверждая, что используемая им технология баркодирования позволяет идентифицировать пары α и β -цепей TCR, принадлежащие одному клону, "на основании их встречаемости с сопоставимой частотой в одних и тех же небольших репликах".

2. При исследовании клона *Slecl* Автор указывает на экспрессию двух β -цепей, одна из которых является нефункциональной. И здесь непонятно, что именно имел Автор в виду.

3. Автор связывает высокий процент нефункциональных молекул TCR β мРНК среди перинатальных репертуаров с подавлением системы NMD в условиях гипоксии, в которых находился плод. Не совсем удачное объяснение, учитывая незрелость моноцитарно-макрофагальной системы в раннем постнатальном онтогенезе.

4. Следует также отметить наличие орфографических ошибок в тексте диссертационной работы. Встречаются профессионализмы, не вполне понятные блоки текста и неточности – например, суррогатную α -цепь Автор называет предшественником α -цепи.

Отзыв официального оппонента, к.ф.-м.н. **Касьянова Артема Сергеевича**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1. В тексте диссертации полностью отсутствует информация о том, каким образом происходила первичная обработка данных секвенирования, а именно, проводился ли какой-нибудь тримминг, удаление адаптерных последовательностей и т.д.

2. В тексте диссертации проводится сравнение с программой MiTCR, которая проводит первичный биоинформатический анализ без учёта UMI. Хотелось бы чтобы автор дал небольшую характеристику применяемым там методам.

3. В литературном обзоре не уделяется должного внимания существующим методам биоинформатического анализа репертуаров Т-клеточных рецепторов.

4. В работе показана зависимость разнообразия репертуаров Т-клеточных рецепторов от возраста индивида. Интересно было бы понять возможно решить обратную задачу, а именно на основе данных о разнообразии репертуаров Т-клеточных рецепторов установить возраст.

Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их научными достижениями, которые подтверждены сериями их публикаций в ведущих российских и международных журналах. Тематика научных исследований официального оппонента Казанского Д.Б. касается исследований иммунорегуляторных аспектов взаимодействия Т-клеточного рецептора (ТКР) с естественными и искусственными лигандами, трансгенеза ТКР и механизма внутритимусной селекции Т-лимфоцитов, природы аллогенного распознавания и МНС-рестрикции и других аспектов изучения строения и функционирования адаптивного иммунитета. Тематика научных исследований официального оппонента Касьянова А.С. касается качественного и безошибочного биоинформатического анализа данных высокопроизводительного секвенирования. Главные научные направления коллектива ведущей организации связаны с разработкой молекулярных и клеточных технологий диагностики и лечения социально-значимых иммунозависимых заболеваний, установлением молекулярных механизмов реализации защитного, восстановительного и адаптационного потенциала организма в условиях действия болезнетворных факторов внутренней и окружающей среды, а также определением индивидуальных особенностей наследования и регуляции признаков, связанных с функционированием организма в норме и при патологии. Высокая квалификация, большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований предложена новая методика анализа репертуаров Т-клеточных рецепторов. Данный подход позволяет эффективно оценивать характеристики репертуаров ТКР, полученных с небольших стартовых количеств клеток. Диссертантом впервые описаны изменения, затрагивающие Т-клеточный репертуар на протяжении жизни.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что автором получены результаты, демонстрирующие существенные изменения в структуре репертуаров

наивных Т-лимфоцитов с возрастом и указывающие на присутствие определенной периферической селекции наивного ТКР при старении иммунной системы. Применительно к проблематике диссертации использован оригинальный метод пробоподготовки и анализа репертуаров Т-клеточных рецепторов, позволяющий на молекулярном уровне проследить за изменениями, затрагивающими пул Т-клеток внутри человека. С использованием предложенного оригинального метода получены данные о тотальных и наивных репертуарах ТКР доноров разного возраста. Все вышесказанное расширяет современные представления о механизмах старения адаптивного иммунитета.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработан эффективный метод пробоподготовки и анализа репертуаров ТКР, позволяющий корректно и нормировано сравнивать их характеристики. Метод в том числе сохраняет информацию о естественном составе и разнообразии небольших Т-клеточных популяций и образцов, содержащих малое количество Т-лимфоцитов в целом. Использование в анализе молекулярных баркодов или UMI продемонстрировало высокую эффективность метода – позволило качественно нормировать данные секвенирования и точно устранять ошибки, возникшие в ходе амплификации и секвенирования, сохранив при этом естественное разнообразие анализируемой библиотеки репертуара ТКР. Разработанный метод открывает принципиально новые возможности для развития персонализированной медицины и повышения эффективности иммунотерапии и вакцинации.

Достоверность результатов исследования сомнений не вызывает: экспериментальные данные были получены с использованием сертифицированного оборудования, воспроизводимость результатов продемонстрирована в различных условиях. При анализе данных были использованы современные методы сбора и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в разработке, планировании и проведении экспериментов, анализе полученных результатов. Основные результаты работы были получены лично соискателем – разработан оригинальный протокол анализа репертуаров ТКР, подтвердивший свою эффективность в том числе и при работе с небольшим количеством стартового материала, отсортированы популяции наивных Т-лимфоцитов доноров разного возраста, приготовлены и отсеквенированы кДНК библиотеки β -цепей ТКР когорт доноров нескольких возрастных групп. Полученные результаты секвенирования проанализированы с использованием оригинального программного обеспечения, разработанного сотрудниками лаборатории, в которой была проведена работа. «Публичность» наивных репертуаров была рассчитана

совместно с Погорелым М.В. из лаборатории сравнительной и функциональной геномики ИБХ РАН. Часть кДНК библиотек Т-клеточных рецепторов была секвенирована на базе Института клинической молекулярной биологии Кильского университета в Германии. Автор лично представлял результаты работы на нескольких конференциях, принимал активное участие в написании и подготовке к печати основных публикаций по проделанной работе.

На основании вышеизложенного диссертационный совет заключает, что диссертация Егорова Е.С. является законченной научно-квалификационной работой, результаты которой имеют значение для развития молекулярной биологии, в частности для понимания механизмов старения адаптивного иммунитета. Работа написана автором самостоятельно и содержит новые и актуальные научные результаты. Таким образом, диссертационная работа Егорова Евгения Станиславовича «Возрастные изменения в структуре репертуаров Т-клеточных рецепторов наивных Т-лимфоцитов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, соответствует всем требованиям (в том числе п.9), предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено положением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650).

На заседании 26 февраля 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Егорову Евгению Станиславовичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 5 докторов наук (по специальности 03.01.03 – молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель
диссертационного совета

академик РАН, д.х.н. Иванов В.Т.

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

27 февраля 2020 г.

