

СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета Д 002.019.01
на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

Российской академии наук

3 июня 2020 года

Защита диссертации

на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Минервиной Анастасии Алексеевны

**Мониторинг адаптивного иммунного ответа человека при вакцинации против
желтой лихорадки**

специальность: 03.01.03 — молекулярная биология

Москва — 2020

СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 3 июня 2020 года.

Председатель диссертационного совета д.х.н., академик **РАН Иванов В.Т.**

Учёный секретарь диссертационного совета д.физ.-мат.н. **Олейников В.А.**

Из 30 членов совета присутствует 23 человека, из них докторов по профилю диссертации – 7.

1.	Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
3.	Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
4.	Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06) удаленное участие
5.	Академик РАН	Богданов Алексей Алексеевич	(03.01.03) удаленное участие
6.	Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
7.	Академик РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03) удаленное участие
8.	Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10) удаленное участие
9.	Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
10.	Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
11.	Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06) удаленное участие
12.	Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
13.	Академик РАН	Лукьянов Сергей Анатольевич	(03.01.03)
14.	Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
15.	Д.б.н.	Мурашев Аркадий Николаевич	(03.01.06) удаленное участие
16.	Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10) удаленное участие
17.	Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06) удаленное участие
18.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
19.	Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(02.00.10)
20.	Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10) удаленное участие
21.	Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
22.	Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03) удаленное участие
23.	Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(02.00.10)

Иванов Вадим Тихонович: Дорогие коллеги, доброе утро! Я искренне приветствую всех тех, кто здесь собрался. Выражаю благодарность, что в столь нестандартных условиях мы делаем все возможное, чтобы наша нормальная работа не прерывалась. Для начала я попрошу Владимира Александровича рассказать какие-то формальные аспекты, которые наверняка не все знают, которые полезно знать для того, чтобы дальше действовать уже с пониманием обстановки. Владимир Александрович, про кворум, как все это делается, какие Постановления существуют, как все это организовано?

Олейников Владимир Александрович: Мы базируемся на постановлении Правительства Российской Федерации, которое вышло 26 мая. Это постановление номер 751, которое позволяет нам проводить защитные советы, защиты в таком интерактивном режиме. При этом требуется, чтобы не меньше, чем одна треть состава голосующих от совета, одна треть от присутствующих, присутствовала в зале. Это значит по Положению Правительства так оговорено. То есть нас вообще минимум, чтобы в зале было 7 человек, но на самом деле у нас на сегодняшний момент в зале 12. Кстати, я вот пересчитал, 8 участников, 8 членов ученого совета, диссертационного совета уже подключились интерактивно. Значит это первое обязательное требование. Теперь вообще общее положение, общее положение – непрерывное присутствие. Мы здесь запланировали, и мы сейчас делаем – мы пишем зал непрерывно. Мы пишем сцену непрерывно. Отдельными файлами будет туда представлено. И мы пишем. Миш, включена запись зума?

Голос из зала: Да.

Олейников Владимир Александрович: Мы пишем вот эту запись «зума». Значит обязательное условие – непрерывное присутствие. Поскольку у нас первое самое заседание, мы вообще идем в первых рядах и поэтому, наверное, нас будут рассматривать под микроскопом. Согласно Положению ВАК все члены диссертационного совета, которые участвуют должны присутствовать непрерывно. То есть я всех очень прошу никуда не выходить из зала, все время присутствовать непрерывно. Тех, кто интерактивно подключен включить все свои визуальные, все камеры. Микрофоны может быть можно и отключить, но, чтобы Вас было видно на экране, потому что это все у нас пишется. Вот Лев Давыдович почему-то отключился – это нехорошо. Вот, я его не вижу. Лев Давыдович? Не отвечает пока. Надо, чтобы все были включены, все непрерывно присутствовали «визуально». Аудио и видео контакт был непрерывно. Если что-то по техническим причинам прерывается, то соответственно вот этот участник заседания, член диссертационного совета должен быть по правилам исключен из заседания. Поэтому я сейчас проведу опрос всех, кто есть по списку, и мы пометим еще раз, кто присутствует. Во-первых, Вадим Тихонович председательствующий, он здесь находится. Роман

Гербертович Ефремов? Не участвует. Липкин не участвует. Олейников – это я. Арсеньев не участвует. Безуглов Владимир Виленович?

Безуглов Владимир Виленович: Здесь!

Олейников Владимир Александрович: Здесь, да, ответил. Бовин Николай Владимирович? На связи, да?

Голос из зала: Обещал быть на связи.

Олейников Владимир Александрович: Так, Богданов – нет. Александр Габибович Габибов?

Деев Сергей Михайлович: Богданов есть! Владимир Александрович, здесь есть Богданов.

Олейников Владимир Александрович: А где он?

Деев Сергей Михайлович: Рукой машет.

Богданов Алексей Алексеевич: Есть! Есть!

Олейников Владимир Александрович: А, есть, есть. Отлично. Алексей Алексеевич, очень рад Вас, так сказать, «видеть». Габибов?

Голос из зала: Он в пути.

Олейников Владимир Александрович: Ну, в пути, в пути. [Деев]Сергей Михайлович?

Деев Сергей Михайлович: Здесь.

Олейников Владимир Александрович: Очень приятно. Дзантиев Борис Борисович? Очень приятно. Долгих?

Долгих Дмитрий Александрович: Здесь.

Олейников Владимир Александрович: Здесь, вижу. Завриев – здесь. Зарайский не на связи? Нет. [Зубов]Виталий Павлович? На связи.

Олейников Владимир Александрович: Да. [Лебедев]Юрий Борисович в зале присутствует. [Лукьянов]Сергей Анатольевич в зале присутствует. Анатолий Иванович Мирошников в зале присутствует. Аркадий Николаевич Мурашев на связи, да?

Мурашев Аркадий Николаевич: Да, я здесь. Из Пушино передаю привет.

Олейников Владимир Александрович: [Овчинникова]Татьяна Владимировна на связи.

Овчинникова Татьяна Владимировна: Доброе утро всем.

Олейников Владимир Александрович: Лев Иванович Патрушев – нет его. Лев Давыдович Румш?

Румш Лев Давыдович: На связи.

Олейников Владимир Александрович: Ага.

Румш Лев Давыдович: Камера не работает, но всех слышу и меня, наверное, слышно.

Олейников Владимир Александрович: Да, очень хорошо, ладно. Но постарайтесь, чтобы камера включилась как-то. Или ее отключили отсюда, нет? Или у вас нет камеры?

Румш Лев Давыдович: У меня нет камеры.

Олейников Владимир Александрович: [Сапожников]Александр Михайлович?

Сапожников Александр Михайлович: Здесь!

Олейников Владимир Александрович: Есть. Евгений Давыдович, нет его. [Смирнов]Иван Витальевич – есть. [Уткин]Юрий Николаевич на связи, видим.

Уткин Юрий Николаевич: Добрый день!

Олейников Владимир Александрович: Виктор Ионович Цетлин?

Цетлин Виктор Ионович: Здесь!

Олейников Владимир Александрович: Здесь. Шапаронов, нет его. Шпаковский?

Шпаковский Георгий Вячеславович: Всем добрый день!

Олейников Владимир Александрович: Отлично. И Илья Викторович Ямпольский? Отлично.

Ямпольский Илья Викторович: Здесь.

Олейников Владимир Александрович: Ну вот, Таня отметила всех, кто присутствует. То есть у нас кворум есть. Мы имеем право начать заседание.

Иванов Вадим Тихонович: Можно действовать, правильно я понимаю? Наверняка есть какие-то вопросы. Но я не уверен, что сейчас нужно выяснять все детали. Давайте примем к сведению все, что слышали и попытаемся войти в нормальное русло. А все вопросы можно потом. У вас какой-то острый вопрос?

Голос из зала: Да, у меня вот какой вопрос. Если за нами будут так внимательно наблюдать, то должны ли мы, сидя в зале не снимать повязки?

Олейников Владимир Александрович: Ну, вообще, хотелось бы, чтобы не снимали, я даже в варежках этих. Вот, чтобы не снимали повязки. Хотя расстояния у нас достаточно большие. Да?

Комеч Екатерина Александровна: Если действительно требуется присутствие на экране всех, кто присутствует, может быть вывести все картинки на экран? Там есть такая кнопка, которая позволяет показать всех участников.

Олейников Владимир Александрович: Ну, наверно есть, что-то я ее не нашел. Я думаю, что тут много, например, так сказать. Нет камеры у Румша, но, тем не менее, он все время все видит и готов с нами общаться, например. Вот, так что, наверное, это необязательно, тем более, когда будет доклад, мы включим демонстрацию экрана, и мы все будем видеть просто презентацию вот на этом экране. Чтобы все наши интерактивные участники они

просто слушали это. Хотя там, по-моему, сбоку тоже можно сделать, чтобы видно было, да? Или список присутствующих. Отдельная «зумовая» запись тоже будет, очень хорошо.

Иванов Вадим Тихонович: И тем не менее, попытаюсь преступить к делу. У нас речь сегодня идет о кандидатской защите Минервиной Анастасии Алексеевны. Нам нужно заслушать материалы личного дела. Что там у нас есть?

Олейников Владимир Александрович:

(Зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что материалы личного дела и документы предварительной экспертизы соответствуют требованиям Положения ВАК)

Иванов Вадим Тихонович: Какие-то есть исправления? Дополнения? Не должно быть. Их и нет. Ну что, слово диссертанту, 20 минут на доклад Анастасия Алексеевна.

Минервина Анастасия Алексеевна:

(Излагает основные положения диссертационной работы)

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо за доклад. Переходим к вопросам. Есть ли вопросы к докладчику? Я должен еще добавить, микрофоны. Какой-нибудь микрофон. Ну, например, вот этот, который стоит вот тут.

Голос из зала: Можно вопрос?

Иванов Вадим Тихонович: Борис Борисович, да? Можно и нужно.

Минервина Анастасия Алексеевна: Да, мы вас видим и слушаем.

Деев Сергей Михайлович: Да, спасибо большое. Интереснейшая работа, прекрасная. Позвольте два вопроса, если можно? Значит любопытно, если я правильно понял у вас при V(D)J-рекомбинации отбираются преимущественно некоторая популяция V-частей. Эти V-участки представлены кластерами и у Вас они отбираются преимущественно. Первый вопрос связан с тем, отбирался ли проксимальный – самый близкий V к D-участку, если кластеры взять генов, или это было статистически, смотрели ли Вы на это?

Минервина Анастасия Алексеевна: Сейчас, я не уверена, что поняла вопрос. Вы про вот эту картинку, правильно?

Деев Сергей Михайлович: Да, я про вот эту картинку. Вот Вы в самом начале показывали слайд, показывали схему V(D)J-рекомбинации, которая происходит при созревании лимфоцитов. V-участки генов расположены кластерами, по несколько генов подряд. И вопрос смотрели ли Вы: у вас при рекомбинации использовались преимущественно ближайшие к D-участку V или же это было статистически?

Минервина Анастасия Алексеевна: Честно говоря, на это мы не смотрели. Но здесь основная причина формирования этих кластеров — это конвергентная селекция. И причина того, что, вот этот кластер, например, очень большой, это то, что эта альфа-цепь

в принципе очень часто собирается в процессе V(D)J-рекомбинации. Я не могу сказать близко он расположен или далеко, но количество вставок, вставочных букв там очень маленькое и такие последовательности они очень часто образуются, поэтому этот кластер такой вот большой.

Деев Сергей Михайлович: Спасибо. И второй вопрос. Вот у Вас была первая вакцинация и потом, спустя 18 месяцев, была вторая. Вы показали прекрасно, очень обильные данные, что отбирались преимущественно те же самые клоны. Обнаружены ли при этом соматические мутации, то есть уже «maturation» – обучение, какие-то точечные мутации в Ваших клонах или они были преимущественно строго теми же самыми?

Минервина Анастасия Алексеевна: Здесь то, что я показывала – мы не смотрели есть ли другие клоны в этой иммунизации. Я не показывала эти данные, но на самом деле небольшое количество новых клонов обнаруживается. Но на самом деле, если проследить их судьбу назад, окажется, что они на первую вакцинацию тоже реагируют. То есть мы на самом деле смотрим на одни и те же клоны, которые были здесь и здесь. То есть это та же самая последовательность CDR3. Кроме того, на сколько я знаю, для человека не описаны соматические мутации в Т-клеточных репертуарах, это все-таки характерно для В-клеток. И я знаю, что только у акул, например, нашли соматические мутации в Т-клеточных рецепторах. Для человека если это и происходит, это еще предстоит узнать.

Деев Сергей Михайлович: Да, именно поэтому был задан вопрос. Спасибо большое, я полностью удовлетворен этим ответом.

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Есть ли еще вопросы? Да, кажется, есть от Долгих вопрос.

Долгих Дмитрий Александрович: Мне спуститься или можно отсюда?

Иванов Вадим Тихонович: Да, лучше в микрофон. По Вашему выбору.

Долгих Дмитрий Александрович: Спасибо за очень интересный доклад. У меня вот какой вопрос. Вы сказали про сотрудника, который 30 лет назад прошел иммунизацию. Вы, насколько я понял, брали кровь, делали вторую иммунизацию. Так вот, у нас в лаборатории есть еще один сотрудник, который прошел иммунизацию от желтой лихорадки более 30 лет тому назад. Буквально вчера я с ним говорил, он сказал, что вот интересная работа, жалко, что он не может присутствовать. Вообще он выразил такую заинтересованность, что если у Вас будет интерес, то он готов. Я уже не знаю на повторную иммунизацию или нет, но уж кровь-то сдать точно готов. Есть ли такой интерес, имеет ли это смысл? Спасибо.

Минервина Анастасия Алексеевна: Спасибо больше. Это даже больше не вопрос, а предложение.

Иванов Вадим Тихонович: Вопрос: есть ли в этом смысл?

Минервина Анастасия Алексеевна: Да, смысл конечно есть. Вакцинация от желтой лихорадки прекрасна и ее надо изучать, это отличная модель. Мы с радостью свяжемся. Я хотела уточнить, что я не говорила, что это был сотрудник, это был донор номер два. Вот, если есть желание поучаствовать во втором нашем проекте, где будет набор большого количества доноров, все кто проходил и не проходил вакцинацию, мы с радостью возьмем Вашу кровь. Всего в двух временных точках, там все будет гораздо проще. Да, нам все это очень интересно. Спасибо большое.

Долгих Дмитрий Александрович: Спасибо, я ему передам. Он свяжется с Вами.

Минервина Анастасия Алексеевна: Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Ответ получен, спасибо. Есть ли еще вопросы?

Голос из зала: Сергей Анатольевич.

Иванов Вадим Тихонович: Да, придется к микрофону подойти.

Лукьянов Сергей Анатольевич: Спасибо большое. Все слышно, да?

Минервина Анастасия Алексеевна: Да, только без микрофона получается.

Лукьянов Сергей Анатольевич: Спасибо большое, очень интересная работа, с огромным удовольствием просто прослушал. Хочу присоединиться к предыдущему предложению. Вопрос звучит так: сейчас Биокад разрабатывает препарат, который полностью вырезает девятое семейство. Как Вы считаете, это повлияет на эффективность вакцинации от желтой лихорадки? Потому что я обратил внимание, что девятое семейство играет на одной из картинок важную очень роль в формировании этого ответа. Ну и опять же, у меня как раз оно вырезано, поэтому если интересно посмотреть, что будет без девятого семейства, то готов поучаствовать.

Минервина Анастасия Алексеевна: Спасибо большое, это действительно очень интересный вопрос. Собственно, вот этот наш набор большого количества доноров он связан с этим вопросом. Потому что мы видим, что у HLA-A02 доноров очень большая часть цитотоксического иммунного ответа направлена против этого эпитопа. Все наши доноры, то есть 6 доноров из предыдущей работы и оба донора из этой, случайно оказались HLA-A02. То есть мы никогда еще не смотрели на ответ на желтую лихорадку у доноров, у которых нет HLA-A02. И тут возникает вопрос: будет ли он слабее, будет ли он как-то по-другому выражен?

Лукьянов Сергей Анатольевич: Вопрос другой, нет девятого семейства, а HLA-A02 есть.

Минервина Анастасия Алексеевна: Да, я сейчас к этому приду. HLA-A02 есть? Ну, это тогда очень интересно. Конечно, мы не знаем, что будет происходить. Но вообще исходя

из данных: был очень классный эксперимент на мышах, первый автор работы Томас Пол. Они показали, они брали вирус гриппа и убирали по одному иммунодоминантные эпитопы из этого вируса и смотрели, как мышь будет реагировать. Будет ли у нее настолько же сильный Т-клеточный иммунный ответ? И, удивительным образом, он был настолько же сильный. Просто первый иммунодоминантный эпитоп исчезал, все остальные приподнимались. То есть я бы ожидала, что конечно ничего совсем страшного произойти не должно. И несмотря на отсутствие TRBV9 семейства вакцинация от желтой лихорадки должна пройти нормально.

Лукьянов Сергей Анатольевич: Спасибо большое за Ваш ответ. То есть у меня есть шанс быть защищенным от желтой лихорадки, а у Биокада не быть ограниченными в Африке или где там еще. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Есть ли еще вопросы? Да, прошу, вот микрофон.

Голос из зала: Мне можно говорить, да?

Олейников Владимир Александрович: Сейчас Сергей Кириакович спросит, а потом Вы.

Завриев Сергей Кириакович: У меня немножко такой, я бы сказал «наивный» вопрос. А вот репертуары, которые Вы наблюдаете после вакцинации, Вы их когда-нибудь сравнивали, их можно сравнить с репертуарами тех, кто заразился действительно лихорадкой, не вакцинировался? И на сколько картины будут совпадать?

Минервина Анастасия Алексеевна: Хорошо. На самом деле это очень интересный вопрос и на такое можно было бы посмотреть. Проблема в том, что желтая лихорадка, к сожалению, в России не встречается

Голос из зала: Почему «к сожалению»?

Минервина Анастасия Алексеевна: К счастью, к счастью! В России сейчас встречается другое. К счастью лихорадка пока в России не встречается, и было бы очень здорово. Я даже не знаю, чего ожидать. Было бы очень здорово найти, конечно, такие образцы и сравнить, как выглядит ответ на инфекцию. Здесь правда возникнет проблема, что точку до инфекции получить довольно сложно, то есть здесь придется смотреть на то, как клоны падают. И мы показывали, что это возможно: выделить такие клоны, как падающие между точкой при появлении симптомов и какой-то точкой сильно после. Да, это хорошая идея, можно попытаться как-то заполучить такие образцы.

Завриев Сергей Кириакович: А есть ли в литературе какие-то аналоги, для других инфекций, когда бы сравнивали репертуары после вакцинации и людей, которые заражались по-настоящему?

Минервина Анастасия Алексеевна: Вообще никаких похожих работ про исследование репертуара в нескольких временных точках после инфекции и вакцинации нет. Есть всего

две похожих работы: одна тоже про желтую лихорадку, сделана не очень правильно и одна против ветрянки, если я не ошибаюсь. Сравнить инфекцию и вакцинацию: так никто не делал. Но вакцина от желтой лихорадки – это живой вирус, то есть, по сути, очень похожий по эпитопам на то, что происходит в реальной жизни. Другие вакцины у нас инактивированные, рекомбинантные, то есть будет не так: будет сильнее разница, чем в случае желтой лихорадки.

Иванов Вадим Тихонович: Еще один вопрос был.

Олейников Владимир Александрович: Да, интерактивно.

Дзантиев Борис Борисович: Можно задать? Есть звук? Анастасия, во-первых, спасибо, замечательная и красивая работа. Тут много вопросов ходило вокруг статистики. Вы знаете, что даже врачи древнего мира говорили, что медицина давно была бы точной наукой, если бы не разная реакция разных людей на одно и то же лечение. То же самое относится к вакцинации, Вы знаете, если вакцинировать разных людей одним и тем же, одни дают сильный ответ, другие средний, третьи вообще никакой. Я ответ уже услышал, что вы собираетесь продолжать эту работу на большем количестве вакцинированных, но сейчас у Вас в работе два человека, один ново-вакцинированный и второй, который уже вакцинировался раньше. Вы считаете, что это достаточно статистически достоверно, чтобы делать какие-то выводы.

Минервина Анастасия Алексеевна: Да, хорошо. Спасибо большое за вопрос. Сейчас я с нескольких сторон попытаюсь подойти к ответу на него. Во-первых, доноров у нас было несколько больше, я смогла описать только одну работу, которая была основной по моей диссертации, в которой было использовано два человека, но в предыдущей работе мы проводили вакцинацию трех пар идентичных близнецов. Их ответ был настолько же сильным, как и здесь у донора M1, но мне кажется, что несмотря на это сила ответа действительно может отличаться сильно. То, что мы видим при динамике ответа на первичную и повторную вакцинацию: это никуда не денется, даже при таком количестве доноров. И кроме того, мы сравниваем не столько доноров, сколько последовательности Т-клеточных рецепторов, которые отвечают на вакцину, а их у нас уже гораздо больше – более полутора тысяч у одного человека и еще 200 штук у другого. Это уже довольно много, чтобы статистически значимо что-то доказать. Спасибо.

Дзантиев Борис Борисович: Спасибо, спасибо.

Иванов Вадим Тихонович: Вопросы иссякли, или еще есть? Большое спасибо, их было не мало, и они были довольно разнообразные. Дальше по процедуре я должен дать возможность научному руководителю, если есть такое желание, охарактеризовать диссертанта.

Мамедов Ильгар Зияддинович: Добрый день, уважаемые коллеги. Я маску сниму, если можно. Надо сказать, что для меня большая радость характеризовать такого диссертанта, как Анастасия Алексеевна. Как Вы все видите, работа была проделана большая, прекрасная. Вернемся немного в прошлое, Анастасия появилась у нас 8 лет назад уже, как я сегодня выяснил. Мы сотрудничаем с самых «малых лет» в нашей лаборатории. Она пришла первый раз на курсовую, диплом и сейчас защищает диссертацию. Кажется, что она была с нами всегда, но на самом деле это не так. И с самых малых лет она попала в мои руки, и с самого начала было понятно, что это большая удача. Она была одним из звеньев цепочки прекрасных студентов, которые тогда приходили в лабораторию и с самого начала, как я уже сказал, было понятно, что здесь получится хороший большой ученый со временем. Путь Анастасии был не прост к сегодняшней работе: ей пришлось сменить направление деятельности в какой-то момент. Но она занималась вообще многими проектами в нашей лаборатории. Здесь показана одна работа, на самом деле, если посмотреть на список ее публикаций, он будет достаточно внушительный, помимо того, что непосредственно относится к работе. И в последнее время вообще весь представленный проект был сделан полностью ее собственными усилиями. Мне, как научному руководителю, оставалось только не мешать, помогать скорее с предоставлением ресурсов, поиском доноров для работы. Поэтому я считаю, что Анастасия Алексеевна большой молодец, сегодня все получилось хорошо, работа прекрасная и я, как научный руководитель, очень доволен тем, что у меня вот такой защищающийся диссертант. На этом, наверное, все, должен ли я сказать, что я агитирую голосовать «за»?

Иванов Вадим Тихонович: Тут уже отдельный вопрос, Ваше дело охарактеризовать личность диссертанта.

Мамедов Ильгар Зияддинович: Спасибо.

Иванов Вадим Тихонович: Владимир Александрович, отзыв ведущей организации интересует, может быть есть какие-то еще отзывы?

Олейников Владимир Александрович: Нет, на автореферат отзывы не поступили, а отзыв ведущей организации, здесь ведущая организация это из ФМБА, Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт Иммунологии.

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).

Отзыв полностью положительный, очень большой, очень объемный. Ключевые моменты в этом отзыве, что диссертационная работа Минервиной Анастасии Алексеевны посвящена исследованиям изменений в репертуаре Т-клеточных рецепторов, в ответ на первичную и повторную иммунизацию живой противовирусной вакциной. Тематика диссертации

полностью соответствует паспорту научной специальности 03.01.03 – Молекулярная биология. Сама диссертация представляет собой хорошо спланированное исследование, предметом которого являются изменения, происходящие в репертуаре Т-клеток после первичной и повторной вакцинации против желтой лихорадки. Целью работы было изучить динамику, клональный состав, антигенную специфичность Т-клеток, отвечающих за противовирусную вакцинацию. Поставлена была целая серия задач, и все поставленные задачи были успешно выполнены диссертантом. В результате исследования соискателем получено 200 библиотек репертуаров альфа и бета-цепей Т-клеточного рецептора различных подтипов Т-лимфоцитов периферической крови в различных временных точках после первичной и повторной вакцинации от желтой лихорадки. Достоверность полученных результатов подтверждена с использованием биологических реплик и параллельным анализом репертуаров альфа и бета-цепей TCR. Структура диссертации соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Значительный вклад диссертанта на всех этапах выполнения исследования сомнений не вызывает. Важный момент – научная новизна. Здесь очень хорошо, много раз встречается слово впервые. Пишется, что с помощью высокопроизводительного секвенирования репертуаров TCR и оригинального биоинформатического подхода, А.А. Минервиной в периферической крови каждого вакцинируемого были обнаружены сотни TCR альфа и TCR бета клонотипов, отвечающих на вакцинацию против желтой лихорадки. Впервые показано, что при повторной вакцинации, даже через 30 лет после первичной, общее количество клонотипов, увеличивающих свою концентрацию после вакцинации, и занимаемая ими доля в репертуаре значительно меньше, чем у доноров, вакцинированных впервые. Впервые проведен одновременный мониторинг TCR альфа и TCR бета репертуаров в различных временных точках после вакцинации, что позволило разработать оригинальный биоинформатический алгоритм для спаривания альфа и бета-цепей TCR на основе схожести клональных траекторий. Впервые в организме человека показано, что ответ на единственный иммунодоминантный пептид (указан пептид) из белка NS4b вируса желтой лихорадки может составлять более 60% всего цитотоксического иммунного ответа. Охарактеризовано более 2000 альфа и бета-цепей TCR, специфичных к иммунодоминантному эпитопу. Разработан оригинальный подход к поиску в репертуаре TCR клонов, активно участвующих в иммунном ответе. Показано, что разработанный алгоритм может выявлять клоны, специфичные к вирусу желтой лихорадки в репертуаре, полученном на пике иммунного ответа на вакцинацию. Теоретическая значимость. Она включает подробное описание процессов формирования памяти в различных временных

точках. Научно-практическая ценность определяется разработкой новой группы экспериментальных методов и алгоритмов для анализа данных, которые могут применены к анализу иммунного ответа на любую инфекцию и вакцинацию. Разработанные технологии высокоточного и высокопроизводительного HLA-типирования может быть использовано в клинической практике при подборе доноров при трансплантации стволовых клеток. В работе также представлено несколько методов для идентификации клонов Т-клеток, вовлеченных в активный иммунный ответ. Эти методы не зависят от природы и последовательности антигенов, поэтому могут быть применены в ситуациях, когда отдельные антигены и эпитопы неизвестны. В частности, при изучении иммунного ответа на новые вирусные инфекции. Далее пишется, что диссертационная работа написана по классическому плану, обзор литературы хороший, в разделе материалы и методы подробно изложены современные методики. Принципиальные недостатки: принципиальных недостатков в работе Минервиной не выявлено. Работа вызывает одно главное пожелание, продолжать и развивать начатое, решать множество актуальных вопросов молекулярной и клеточной иммунологии на основе тех технологий и подходов, научных заделов и результатов, которые автором созданы и использованы в данной диссертационной работе. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. И в заключение пишется, что работа Минервиной А.А. представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 представляет собой законченную работу высокого уровня, полученные в ходе работы результаты вносят существенный вклад в решение актуальных проблем современной иммунологии. Диссертация Минервиной А.А. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно положению ВАК, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности молекулярная биология. Отзыв составил Атталауханов Равшан Иноятович, заведующий лабораторией иммунной биотехнологии Института Иммунологии, д.м.н. профессор. Отзыв утвержден директором института иммунологии ФМБА РФ, д.м.н. профессором, член-корр. РАН Хаитовым.

Иванов Вадим Тихонович: Я не услышал в отзыве замечаний критических, там было одно пожелание продолжить работу, но в докладе диссертант уже сказал, что они продолжают работу, поэтому я не вижу необходимости тут специально выступать по поводу ответа на замечания. У Вас нет возражений? Отлично. Тогда мы можем перейти к заслушиванию отзывов официальных оппонентов. Член-корреспондент Купраш Дмитрий Владимирович, слушаем Вас.

Купраш Дмитрий Владимирович:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).

Уважаемые коллеги, здравствуйте! Большое спасибо за возможность оппонировать эту великолепную работу. Нет лучшего способа возвращения к нормальной жизни после карантина, чем участвовать в таком прекрасном празднике науки, когда прямо участники заседания подбегают к микрофону и не просто призывают к продолжению исследования, а предлагают себя в качестве участников. Это совершенно великолепно, как настоящая живая наука должна работать. Я не буду зачитывать отзыв целиком, потому что многие очевидные моменты о том, как все здорово сделано здесь повторяются. Можно только еще раз подчеркнуть, что работа будет иметь, кроме необычайной красоты, элегантности и возможности на молекулярном уровне посмотреть на классическую систему, про которую мы читали в учебниках, и слушали на лекциях, работа будет иметь огромный практический потенциал, потому что в большом количестве разнообразных заболеваний, в том числе социально-значимых, нужно смотреть на Т-клеточный ответ на какие-то конкретные эпитопы и манипулировать им. Мы увидели на последнем слайде, что и в изучении коронавирусной инфекции Анастасия уже успела принять участие. На самом деле работа очень важная, она уже не единственная такая, но одна из нескольких «топовых» мировых работ, о том, что на коронавирусную инфекцию, по-видимому, предсуществует какой-то Т-клеточный иммунитет. Это очень важно, как для подъема оптимизма населения, так и для принятия правильных решений властями, ну и естественно, для понимания биологии явления. Работа была прекрасно доложена, поэтому я не буду зачитывать те части отзыва, где пересказываются задачи и что они были успешно решены. Еще среди сделанных наблюдений особенно мне, ну опять же много что понравилось. Очень интересное наблюдение, что Т-клеточный ответ на повторное заражение оказался на целый порядок более слабым, но при этом более быстрым и, в основном, CD4, захватывающим в основном CD4 Т-хелперы. Опять всего два человека, понятно, что нужно смотреть другие случаи, смотреть насколько это закономерно будет подтверждаться, но это очень интересно. Интересно наблюдение по смене фенотипов клонов лимфоцитов. Очень элегантно выглядит алгоритм для спаривания альфа и бета-цепей по сходству клональных траекторий. Очень, очень красиво получилось и получается, что он не требует ничего кроме достаточного количества образцов, полученных в разный момент времени. Ценно, что это биоинформатическое спаривание было проверено прямым секвенированием отдельных клеток. Опять же тут можно повторить, что вот эти разработанные методы и алгоритмы прямо очевидно, как они могут применяться в тех биомедицинских приложениях, где нужно манипулировать последовательностями Т-клеточных рецепторов, подсаживая трансдуцированные клетки

какими-то специфическими кДНК клонами. Надо сказать, что принципиальных замечаний у меня к работе тоже нет. Есть такое ощущение, что при работе над текстом Анастасия была занята более важными делами, что, насколько я понимаю, чистая правда. Есть такие элементы недочитанности и спешки, лабораторного жаргона, который совершенно не мешает понимать, о чем идет речь и несколько не снижают прекрасно впечатления от работы. Я, когда писал отзыв у меня возникло много вопросов, которые может надо было просто задать Анастасии вживую, но я их положил на бумагу, теперь придется их зачитать и послушать ответы. Что известно о специфических антителах у исследованных пациентов? Показывали ли они классическую картину вторичного иммунного ответа? Какие особенности гуморального ответа, если о них известно, имеются у пациента P1, который получил вторичную вакцинацию через 30 лет после первой? Вторым вопросом. В разделе по идентификации изменившихся клонов на основе клональных траекторий описан анализ клональных траекторий методом главных компонент. При этом выявляются два кластера клонов, один из которых соответствует клонам, которые идентифицированы как реагирующие на желтую лихорадку при помощи анализа экспрессии генов. Что можно сказать о втором кластере, может ли он соответствовать какому-то подмножеству клонов с уникальными свойствами? И еще на рисунке 20С я заметил, что динамика ответа на первичную вакцинацию, которую смотрели при помощи пакета EdgeR, который смотрит на экспрессию генов, и при помощи анализа методом главных компонент получается очень похожая динамика, за исключением начальной точки, где метод главных компонент выдает на много больше клонов реактивных на желтую лихорадку. В общем, там есть разница. Хотелось бы понять, чем она объясняется? А у меня в отзыве, по-моему, опечатка, за это прошу прощения. Третий вопрос. Спаривание альфа и бета-цепей TCR на основе клональных траекторий позволяет корректно определить пары для большинства реактивных клонов, однако, не для всех. Что можно сказать о свойствах клонов, которые не удалось идентифицировать? Есть ли основания считать, что наиболее важные для протективного ответа пары цепей были идентифицированы и тем, и другим методом? Не может ли это быть проблемой в ситуации, когда реакция не такая яркая, например, в случае противоопухолевого ответа? Четвертый вопрос по рисунку 22. Там показана стратегия сортировки субпопуляций Т-клеток, и видно, что в «наивных» Т-клетках памяти, которые идентифицируют с помощью дополнительного CD95 окрашивания, очень мало клеток. И соответственно при анализе клонотипов эти клетки, такое впечатление, обнаруживаются редко и неравномерно. Вопрос: удалось ли собрать достаточное количество материала? Не может ли редкая встречаемость этого фенотипа среди реактивных клонов быть следствием недостаточной

глубины чтения или же все было нормально и это их биологическое свойство? Пятый вопрос. В разделе, посвященном силе иммунного ответа на иммунодоминантный эпитоп, приводится ссылка на литературные данные о снижении экспрессии корцептора CD8 на пике активации. Наблюдалось ли подобное снижение в экспериментах в данной работе? Шестой вопрос, опять про метод идентификации клонов при помощи пакета EdgeR. Насколько он чувствителен к интенсивности ответа и глубине покрытия? Хватит ли у него чувствительности в случае, когда ответ не такой яркий, опять же приходит в голову противоопухолевый иммунный ответ? И седьмой вопрос. При обсуждении распределения клонов Т-клеток между фенотипами высказывается в разделе результатов, по-моему, очень интересная гипотеза о том, что фенотип клеток может служить сенсором концентрации клеток с определенным TCR, однако это никаким образом не попало в выводы. Почему? На этом все. Еще раз я благодарю за возможность ознакомиться с этой работой. Поздравляю Анастасию и коллектив лаборатории института с прекрасным проектом, прекрасным новым исследователем и, несомненно, призываю всех голосовать «за» эту работу. Мне читать последний формальный параграф?

Иванов Вадим Тихонович: Давайте, для порядка сделаем.

Купраш Дмитрий Владимирович: Давайте. Таким образом, диссертация Минервиной Анастасии «Мониторинг адаптивного иммунного ответа человека при вакцинации против желтой лихорадки» полностью отвечает требованиям "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденных Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от 21 апреля 2016 года № 335, от 02 августа 2016 года № 748 и от 29 мая 2017 года № 650, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор диссертации Минервина Анастасия Алексеевна несомненно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология.

Иванов Вадим Тихонович: Анастасия Алексеевна, у оппонента было семь вопросов, я надеюсь, Вы успели их зафиксировать и сумеете шаг за шагом на них ответить. Слушаем Вас.

Минервина Анастасия Алексеевна: Да, я очень постараюсь и попробую Вам еще напомнить, о чем были вопросы. Значит, первый вопрос был связан с тем, смотрели ли мы на антитела у доноров. И здесь очень простой ответ: нет, мы в этой работе не смотрели на антитела, мы ничего не можем про это сказать. Но у нас запасен биологический материал, который может позволить, во-первых, посмотреть на антительный ответ, а во-вторых еще, например, отсекулировать репертуары В-клеток. Второй вопрос был связан с поиском изменившихся Т-клеток с помощью метода главных компонент. К сожалению, про это я

совсем не успела рассказать, поэтому я сейчас введу быстро всех в курс дела. Значит мы использовали метод главных компонент для того чтобы найти какие-то характеристические траектории, какое-то характерное поведение среди всех наших клонов. И понятно, что большая часть клонов в репертуаре никак не реагирует на желтую лихорадку и их концентрации во всех временных точках будут довольно стабильны, то есть это будет прямая линия. В то время как для желтой лихорадки клоны будут резко расти и потом падать. Собственно, метод главных компонент был применен к тысяче самых представленных клонов и как раз два кластера отражают эти две модели поведения. То есть розовые клоны здесь — это клоны, которые реагируют на желтую лихорадку, и они очень сильно пересекаются с тем, что идентифицирует EdgeR. А клоны, которые другие, второй кластер — это просто клоны, которые ничего не делают. Ну, в чем-то это тоже уникальное поведение. Вот, и здесь на графиках показано сравнение этих двух методов. Голубым показана траектория, которую мы получаем с помощью EdgeR, а зеленым показана траектория, которую мы получаем с помощью иерархического кластеринга, который мы применяем на вот эту картинку, потому что главные компоненты позволяют нам только визуализировать, а потом нужно как-то определить эти кластеры. И я отмечу, что это доля ЖЛ-реактивных клонов, то есть их количество, определяемое методом главных компонент гораздо меньше, потому что мы смотрим только на очень представленные клоны. Но доля действительно очень сильно отличается в дне 0 и это просто связано с тем, что какой-то крупный клон из вот этого кластера, который на самом деле не изменился, он попал с помощью иерархического кластеринга сюда и это в логарифмическом масштабе видно, как очень большой вклад в день 0 и почти никакого вклада в день 15. То есть это просто связано с тем, как алгоритм иерархического кластеринга выделяет вот эти два кластера. Возникает логичный вопрос: зачем вообще это делать, если есть EdgeR, который более чувствителен и позволяет все хорошо выделить? Но “фишка” в том, что метод главных компонент. Во-первых, нам не нужны биологические реплики, чтобы их использовать, то есть никакой модели шума здесь нет. Кроме того, использование EdgeR предполагает, что Вы что-то знаете про иммунный ответ, то есть Вы знаете, что на день 15 будет пик и тогда Вы ищите клоны, которые растут или падают. А этот метод позволяет нам искать какие-то тренды в поведении всех этих клонов и, когда Вы ничего не знаете про иммунный ответ — это хороший способ, чтобы найти какие-то модели поведения. Сейчас следующий будет вопрос про метод спаривания альфа/бета-траекторий, который, к сожалению, у меня тоже не хватило времени рассказать. Но во время работы мы заметили, что данные, которые мы получаем с помощью секвенирования альфа-репертуаров и данные, которые мы получаем с

помощью секвенирования бета-репертуаров очень похожи. Мы сделали алгоритм, который что делает. Он берет вот эту траекторию, которую мы видим в альфа-репертуаре и накладывает на траектории в бета-репертуаре и пытается найти наиболее похожую. Таким образом, он делает предсказание, как эти две цепи связаны в гетеродимере. Часть из этих клонов мы могли валидировать с помощью технологии 10x Genomics, то есть там, где мы получали действительно парные репертуары с помощью эксперимента. Действительно видно, что не все, далеко не все клоны нам удалось спарить. Основная проблема, которую мы видели — это конвергентная рекомбинация. То есть можно представить, что есть два разных клона у них разные бета-цепи, но так случилось, что у них одинаковая альфа. Такое бывает довольно часто, мы такое видели. Дальше можно представить, что один из этих клонов действительно реагирует на желтую лихорадку и, соответственно, будет иметь красивую траекторию. А другой не будет реагировать совсем. Тогда для альфа-цепи мы не увидим никаких изменений, потому что две клональные траектории сложатся, и никаких изменений видно не будет. А для беты будет две красивых траектории. В таком случае мы ничего никогда этим методом спарить просто не сможем. И конечно, чтобы это достоверно работало нужно, чтобы хотя бы в некоторых точках клон был в достаточно большой концентрации, то есть попадал в топ 1000 в топ 2000 репертуара, в область, где мы видим воспроизводимые значения концентраций, иначе это тоже работать не будет. Следующий вопрос, даже есть. По поводу вот этой картинки. Действительно количество «наивной» памяти гораздо меньше, чем то, что мы получаем в центральной, эффекторной и терминально-дифференцированной эффекторной памяти. Я думаю, что реальная встречаемость ЖЛ-реактивных клонов в этой популяции гораздо больше. Но нам удалось собрать достаточное количество клеток, чтобы судить о том, попадают ли туда крупные ЖЛ-реактивные клонотипы. И, стоит заметить, что все клоны, которые мы нашли относились к CD8 фенотипу, случайно такого быть не могло, то есть скорее всего какую-то чувствительность мы получили, несмотря на небольшое количество клеток. Следующий вопрос заключался в том, видели ли мы снижение экспрессии CD8 маркера на поверхности клеток. В этой работе мы использовали метод иммуномагнитной сепарации для получения CD4/CD8 клеток, поэтому про уровень экспрессии на поверхности мы сказать ничего не можем. Дальше был вопрос, можно ли использовать EdgeR для каких-то менее сильных иммунных ответов, например, противоопухолевых. Я не являюсь экспертом в противоопухолевом иммунном ответе, но я могу дать простую оценку. Для того чтобы EdgeR выделил клон как значимо изменившийся, его пиковая концентрация, при условии, что его не было до этого, должна быть не менее 50 Т-клеток на миллион Т-

клеток. Для сравнения, самый крупный клон в репертуаре - это примерно 1%. То есть достаточно мелкие изменения можно поймать, не знаю, хватит ли этого для противоопухолевого ответа. И еще там был вопрос, почему интересная гипотеза не попала в выводы. На самом деле, это в каком-то виде содержится в самом последнем выводе. Мы видели, что клоны Т-клеток неравномерно распределены между фенотипом один и фенотипом два, которые мы видели с помощью секвенирования отдельных клеток. Но причины, которые приводят к такому неравномерному распределению, требуют отдельного изучения и поэтому в выводы это вынесено быть не может. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Дмитрий Владимирович, есть ли желание не согласиться или поспорить, это можно сделать в общей дискуссии. А сейчас переходим к заслушиванию второго официального оппонента, Григорий Александрович Ефимов, институт Гематологии, доктор биологических наук.

Ефимов Григорий Александрович: Маленькая корректива, кандидат биологических наук пока.

Иванов Вадим Тихонович: Кандидат, да.

Ефимов Григорий Александрович:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).

Уважаемые члены диссертационного совета, добрый день. Спасибо за приглашение, это большая честь выступить оппонентом на этом совете, не в первый раз, надеюсь не в последний выступаю здесь. Те защиты, которые я слышал, до этого являлись блестящими, и сегодняшняя защита не исключение. Она посвящена изучению адаптивного иммунного ответа. Адаптивный иммунитет - это система, которая возникла в процессе эволюции как ответ на значительно более высокую скорость изменчивости патогенов по сравнению с хозяином. Здесь исследуются конкретно Т-лимфоциты, это один из ключевых компонентов адаптивной иммунной системы, и они обладают тем свойством, что их антиген-распознающий рецептор, то чем они взаимодействуют с патогенами, получается в процессе практически случайной рекомбинации генетических сегментов, что обеспечивает безграничные возможности для распознавания. В этой диссертационной работе главный акцент делается на изучение Т-клеточного иммунного ответа на острую вирусную инфекцию, с использованием самых современных методов молекулярной биологии и биоинформатики. Нельзя было найти лучшего времени, чтобы защитить такую работу: об актуальности мы узнаем из сводок новостей, о том, как наша иммунная система успешно, или не очень успешно взаимодействует с острой вирусной инфекцией, которая идет сейчас. В работе впервые была принята попытка (очень успешная попытка, забегая вперед) проанализировать иммунный ответ как на уровне жизни, траектории

отдельного клона во времени, так и на уровне общего среза репертуара Т-клеточных рецепторов. Поскольку в качестве модели острой вирусной инфекции была использована живая вакцина, то можно в условиях контролируемого заражения было получить различные временные точки, в том числе очень ценную временную точку «до» и тем самым отслеживать, как развивается иммунный ответ и как он происходит в реальном времени. Кроме того, очень удачно в этой работе был использован анализ отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов, и за счет пересечения между клонами которые распознают желтую лихорадку и клонами из отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов можно было получать информацию не только о клональном составе и разнообразии, но и о том, как меняется фенотип Т-клеток со временем, в том числе на большом промежутке времени после контакта с возбудителем. Были в этой работе определены последовательности Т-клеточных рецепторов, распознающих вирус желтой лихорадки за счет того, что происходит их клональная экспансия после контакта с вирусом. Было показано, как происходит эта клональная экспансия: это очень любопытно, видеть то, что мы знаем из учебников на примере отдельных клонов и как затем происходит контракция, сокращение отдельных клеток. Очень любопытно, что первичную инфекцию отличает сила иммунного ответа, большая чем при повторной инфекции, но количество клонов было и там и там достаточно большое. Также было показано, что скоростью иммунного ответа против повторной инфекции значительно выше: в то время как пик первичного ответа приходился на 15 день, пик повторного уже на пятый день. Кроме того, был в работе предложен оригинальный метод. Дело в том, что в работе анализировался как репертуар как альфа, так и бета-цепи Т-клеточного рецептора, но они анализировались независимо, поэтому в итоге получаем два независимых репертуара. А здесь был предложен метод, как можно с помощью отслеженной траектории отдельных клонов спарить эти цепи и полностью восстановить структуру Т-клеточного рецептора. Еще нужно отметить, что в этой работе получена наибольшая база данных рецепторов, распознающих желтую лихорадку, и конкретно рецепторов, распознающих наиболее иммунодоминантный эпитоп, который представляется аллелем HLA-A02. Почему это важно: в других работах было показано, что за счет гомологии между рецепторами, распознающими один и тот же эпитоп можно получаемые *de novo* последовательности рецепторов аннотировать и предсказывать специфичности. Собственно, в этой работе тоже было показано, что рецепторы, распознающие один и тот же эпитоп тоже имеют большую степень конвергентной рекомбинации, очень похожи друг на друга. Еще было показано, что существует два различных структурных рецептора для распознавания этого эпитопа. Про самые сам текст диссертации я могу сказать только хорошее: он лаконично, четко и очень

хорошо написан. Вопросов у меня нет, которые, забегая вперед скажу, нисколько не умаляют достоинств работы: работа великолепная. Замечания следующего рода: во-первых, обобщения про сравнительную силу CD4 и CD8 Т-клеточного иммунного ответа сделано здесь на одном доноре. Наверное, это слишком сильное утверждение. Вполне вероятно, что сравнительная сила CD8 и CD4 иммунного ответа связана в том числе с набором HLA конкретного пациента, с тем, что есть иммунодоминантные эпитопы, как здесь показали, иммунодоминантный эпитоп перехватывает на себя большую долю ответа, этот эффект нужно изучать на большей выборке. Анастасия Алексеевна сказала, что работа продолжается и это очень здорово. Второе небольшое критическое замечание связано с оригинальным и замечательным методом по спариванию альфа/бета цепей. Единственное, что меня немного смутило, то что здесь оценивалась его эффективность по сравнению с данными секвенирования отдельных клеток, т.е. измерялась чувствительность метода - количество заведомо правильных пар, которое этим методом было показано. Еще важно оценить специфичность - то есть, сколько из предсказанных этих методом пар действительно воспроизвелись независимым методом. Хотелось бы, чтобы это тоже в дальнейшем было охвачено. Формальные слова я должен произнести: данная работа полностью соответствует требованиям ВАК, диссертант без сомнения заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук, а в заключение хочу сказать, что жизнь уже показала, какая значимая эта работа и этот подход: автором в кратчайшие сроки с помощью этих же методов была сделана замечательная другая работа по оценке иммунного ответа на коронавирусную инфекцию, в которой впервые были показаны клоны, узнающие этот вирус. Здорово, что эти методы оказались так быстро востребованы. Спасибо за внимание.

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо! Если есть желание, можно ответить на замечания.

Минервина Анастасия Алексеевна: Да, я бы хотела ответить. Я хотела бы согласиться, что действительно по результатам, полученным на такой небольшой когорте нельзя делать каких-либо громких заявлений. И действительно, даже в предыдущей работе, где мы анализировали иммунный ответ однояйцевых близнецов, мы видели, что вклад CD8 и CD4 ответа может сильно отличаться, хотя у них одни и те же аллели HLA. Но я хочу отметить, что здесь замечание о силе CD4 и CD8 ответа было высказано про вакцинацию одного и того же донора и про то, что мы видели разницу во вкладе CD4 и CD8 между первичной и вторичной вакцинацией. И здесь, конечно, никакие аллели HLA влиять на это никак не могут, и это все было высказано только в рамках обсуждений и в выводы это, конечно, не попало. И, по поводу оценки эффективности метода спаривания клональных траекторий: я согласна, что такой подход, который предлагает мой оппонент был бы более

правильным, но он бы требовал для нас проведения очень большого эксперимента с секвенированием единичных клеток. Желательно это было бы делать на день 15. Надо сказать, что в году, когда мы это делали, не существовало такого набора, который позволял бы секвенировать альфа/бета-цепи внутри отдельных клеток и поскольку мы спаривали все клоны, безотносительно эпитопов, а могли проверить только клоны, которые распознают иммунодоминантный эпитоп, нам пришлось придумывать, как нам проверить то, что метод действительно работает, поэтому и пришлось идти на такие ухищрения, хотя конечно было бы сделать более правильно, как предлагает оппонент. Все. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо! Есть еще один документ, который мы должны были чуть раньше огласить, но давайте сделаем сейчас.

Олейников Владимир Александрович: Да, тут есть документ, который называется “Заключение организации, где выполнена работа”. Здесь я не буду повторно зачитывать. Заключение начинается с жизнеописания нашего диссертанта, Анастасии Алексеевны, с характеристики ее и ее руководителя, Мамедова Ильгара Зияддиновича и указывает, что тема диссертации была утверждена ученым советом нашего института. В первой редакции тема была утверждена в 2014 году, в окончательной редакции в 2019 году. И по итогам обсуждения принято заключение, что содержание диссертации соответствует отрасли биологической науки и соответствует специальности «молекулярная биология» и полностью соблюдены требования, установленные Положением о присуждении ученых степеней. Таким образом, диссертация рекомендуется к защите для соискания ученой степени кандидата биологических наук. Заключение принято на заседании отдела геномики адаптивного иммунитета, это отдел нашего института и подписано руководителем лаборатории сравнительной и функциональной геномики Ю.Б. Лебедевым, зам. директора ИБХ РАН И.В. Ямпольским и утверждено директором А.Г. Габировым.

Иванов Вадим Тихонович: Приняли к сведению. Мы сделали все необходимые действия для перехода к общей дискуссии. У Вас есть желание выступить к дискуссии: прошу!

Лукьянов Сергей Анатольевич: Уважаемые коллеги, я бы хотел выступить в поддержку работы. Она просто прекрасна, и доложена прекрасно, но главное и выполнена прекрасно. Это большой успех коллектива. А сказать я хотел, что этот Т-клеточный иммунитет и способ такого глубокого детального и в то же время эффективного анализа очевидно необходимая часть исследования иммунитета. У нас врачи любят говорить «иммунный статус», я никогда не мог понять, что за этим стоит: набор каких-то параметров, которые мне лично, мало что говорят о пациенте. Сейчас COVID19 — эта история, очевидно, что

эта технология, очевидно, будет активнейшим образом использована. Мы здесь занимаем лидирующие позиции, в смысле технологического уровня эффективности программ, не единственные в мире, но на очень достойном уровне, наверное, в тройке-пятерке лидеров. Без этих данных вот этот «идиотизм статистический», который мы сейчас все наблюдаем, когда кривые идут вверх-вниз. А с чего они так идут? Если туда не встроить Т-клеточный иммунитет — защита от предыдущих COVID инфекций, их распространенность по земному шару, странам и прочему, эти картинки никак не сложатся и никакой предсказательной силой обладать не будут. Я думаю, что это в течении нескольких месяцев, потому что проекты уже запущены и у нас в России, и в других странах, эта картинка наконец-то начнет хоть как-то складываться. Поэтому призываю проголосовать «за» и поздравляю с большим успехом и коллектив, и институт.

Иванов Вадим Тихонович: Понял. Кто-то еще хочет добавить к тому, что мы услышали? Я не вижу желающих.

Олейников Владимир Александрович: Из интерактивной группы никто не хочет?

Иванов Вадим Тихонович: Вы по поводу чего?

Олейников Владимир Александрович: Я обращаюсь к тем, кто интерактивно с нами связывается.

Овчинникова Татьяна Владимировна: Владимир Александрович, вы меня не слышите?

Олейников Владимир Александрович: Вот теперь слышу, Татьяна Владимировна!

Овчинникова Татьяна Владимировна: Я хотела бы сказать два слова, если позволите. Я бы хотела обратить внимание членов диссертационного совета на высокий уровень публикаций диссертанта. Во-первых, это шесть публикаций в зарубежных журналах, причем в высокоимпактных зарубежных журналах, среди которых, например, PNAS. А в двух из них Анастасия Алексеевна является первым автором, а в еще одной публикации она имеет равные права с первым автором. Это значительно превышает формальные требования ВАК, кроме того работа докладывалась на шести представительных международных форумах. То есть можно сказать, что уровень международной экспертизы этой работы очень высокий. Поэтому мне кажется, что тут двух мнений быть не может, и я призываю всех членов диссертационного совета голосовать «за».

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо, учтем Ваше мнение тоже. Еще есть желающие выступить? Тогда передаю слово диссертанту для заключительного слова. Потом уже будем действовать по протоколу.

Минервина Анастасия Алексеевна: Я могу начинать, да? Во-первых, я хотела бы сказать большое спасибо всем, кто сегодня в личной или онлайн форме смог присоединиться к этому замечательному событию. Спасибо, что сделали это возможным,

несмотря ни на что. Я бы хотела высказать благодарность Дмитрию Владимировичу и Григорию Александровичу, что они согласились оппонировать мою работу и что они с таким большим вниманием и интересом к ней отнеслись. Конечно, я хочу сказать огромное спасибо моему научному руководителю Ильгару Зияддиновичу и заведующему лабораторией Юрию Борисовичу. Всем сотрудникам отдела геномики адаптивного иммунитета, и конечно в особенности моим коллегам из лаборатории сравнительной и функциональной геномики. Здесь я быстренько хочу выделить Катю Комеч, которая всегда была готова сортировать со мной клетки, в любое время, спасибо ей большое за ее профессионализм и оптимизм. И конечно Михаилу Погорелому, чей вклад в эту работу сложно как-то переоценить. Особое спасибо я также хочу сказать своей семье, к сожалению, они не смогли приехать сегодня, и моим друзьям. Некоторых я вот вижу, что они подключены онлайн и мне очень приятно, что они дотерпели до конца. Спасибо Вам большое! Спасибо всем!

Иванов Вадим Тихонович: Отлично, спасибо. Дальше нам нужно провести процедуру голосования, которое будет несколько непривычным, чем то, что мы обычно имеем. А потом мы будем голосовать за проект заключения по диссертации, с которым члены диссертационного совета могли ознакомиться уже. Для того, чтобы упростить это последнее действие: есть ли какие-то предварительные замечания по поводу проекта заключения, обычно Николай Владимирович Бовин находит какие-то детали, а сейчас его с нами нет.

Бовин Николай Владимирович: Нет, я здесь.

Иванов Вадим Тихонович: Есть ли у Вас замечания?

Бовин Николай Владимирович: Да, есть, конечно. В той версии, которую я получил, там немножко с падежами не везде в порядке, но я не буду на это сейчас обращать внимания, это диссертант сам найдет. А главное у меня пожелание по тому разделу, который называется «Теоретическое значение». В принципе можно оставить так, как написано сейчас, но мне кажется, что можно сделать лучше. Дело в том, что там фактически перечисляется то, что сделано еще раз и только в самом конце этого раздела написано, что выдвинута какая-то гипотеза. Мне кажется, что теоретическое значение у этой работы, действительно теоретическое, безусловно есть, и о нем можно было бы написать и заключение от этого бы только выиграло.

Иванов Вадим Тихонович: Если написать по-другому, то нужно обсуждать с авторами этого заключения, как сделать по-другому. Вы готовы это дело в рабочем порядке доработать? Вопрос к авторам и Николаю Владимировичу.

Бовин Николай Владимирович: Да, конечно.

Иванов Вадим Тихонович: Я считаю, что наш совет может довериться тому результату, который получится. Нас устроит любой согласованный автором и Николаем Владимировичем результат. Есть иные предложения? Давайте примем его за основу и представим себе, что такая доработка будет проведена. И можем голосовать уже за так сказать «доработанный» в кавычках вариант проекта заключения. Нет возражений? Тогда Владимир Александрович, как будем голосовать?

Олейников Владимир Александрович: По духу Постановления, там прописано, что открытое голосование. Поскольку у нас часть в зале, часть присутствует интерактивно, по духу Постановления предполагается, что мы опросим каждого из участников. Нет возражений? Прекрасно. Ну, тогда мы по алфавиту пойдём по присутствующим. По алфавиту первым оказался Бовин Николай Владимирович.

Бовин Николай Владимирович: Я согласен, конечно, я за.

Олейников Владимир Александрович: Богданов Алексей Алексеевич?

Богданов Алексей Алексеевич: Я за!

Олейников Владимир Александрович: Габибов Александр Габибович?

Габибов Александр Габибович: За!

Олейников Владимир Александрович: Деев Сергей Михайлович?

Деев Сергей Михайлович: За!

Олейников Владимир Александрович: Дзантиев Борис Борисович?

Дзантиев Борис Борисович: Несомненно, за!

Олейников Владимир Александрович: Долгих Дмитрий Александрович?

Долгих Дмитрий Александрович: За!

Олейников Владимир Александрович: Завриев Сергей Кириакович?

Завриев Сергей Кириакович: За!

Олейников Владимир Александрович: Зубов Виталий Павлович? Виталий Павлович?

Вижу, но не слышу. Виталий Павлович, вы меня слышите? У него звук пропал.

Иванов Вадим Тихонович: может быть жёстами можно?

Олейников Владимир Александрович: Он куда-то в вверх смотрит. Виталий Павлович?

Ладно, немного отложим. Юрий Борисович Лебедев?

Юрий Борисович Лебедев: За!

Олейников Владимир Александрович: Прекрасно. [Лукьянов]Сергей Анатольевич?

Лукьянов Сергей Анатольевич: За!

Олейников Владимир Александрович: [Мирошников]Анатолий Иванович?

Мирошников Анатолий Иванович: За!

Олейников Владимир Александрович: Как хорошо. [Мурашев]Аркадий Николаевич?

Мурашев Аркадий Николаевич: За!

Олейников Владимир Александрович: Все. [Овчинникова]Татьяна Владимировна?

Овчинникова Татьяна Владимировна: Я за.

Олейников Владимир Александрович: Отлично! [Румш]Лев Давыдович?

Румш Лев Давыдович: Безусловно за!

Олейников Владимир Александрович: [Сапожников]Александр Михайлович?

Сапожников Александр Михайлович: За!

Олейников Владимир Александрович: [Смирнов]Иван Витальевич?

Смирнов Иван Витальевич: За!

Олейников Владимир Александрович: [Уткин]Юрий Николаевич?

Уткин Юрий Николаевич: За!

Олейников Владимир Александрович: [Цетлин]Виктор Ионович?

Цетлин Виктор Ионович: За!

Олейников Владимир Александрович: [Шпаковский]Георгий Вячеславович?

Шпаковский Георгий Вячеславович: Несомненно, за. Прекрасная работа, хорошо доложена.

Олейников Владимир Александрович: И [Ямпольский]Илья Викторович?

Ямпольский Илья Викторович: За!

Олейников Владимир Александрович: Прекрасно.

Безуглов Владимир Виленович: Меня не спросили, я тоже за!

Олейников Владимир Александрович: Как не спросили, прошу прощения... Сейчас нужно еще достучаться до Зубова Виталия Павловича.

Зубова Виталий Павлович: Я за.

Олейников Владимир Александрович: И наконец, в заключение, ученый секретарь - это я. Я за, безусловно. И наконец, председатель.

Иванов Вадим Тихонович: Поддерживаю.

Олейников Владимир Александрович: Поддерживает, за. То есть у нас единогласное голосование.

Иванов Вадим Тихонович: Давайте утвердим результаты голосования, кто «за»? Кто против? Утвердили! И проект заключения, если нет больше замечаний, давайте поддержим. Кто за то, чтобы поддержать?

(Далее проходит голосование по проекту заключения диссертационного совета. Проект заключения принимается единогласно).

Все голосуют... Спасибо! Спасибо всем за проведенную работу. Я хотел бы сказать, что нам и дальше, по-видимому, предстоит работать в таком режиме. Накопилось много защит: весь июнь каждая среда - одна защита, а иногда и две.

Олейников Владимир Александрович: Я хочу всех поздравить нас, с тем что первый блин прошел не комом, а очень успешно! Дальше бы так, это очень здорово. Десятого числа планируется две защиты, мы опять разошлем проекты заключения и проекты писем-заявлений о том, что мы согласны работать в таком режиме и поскольку мы пишем по каждой защите отдельный протокол, то к каждой защите будем прикладывать пакет заявлений. Просьба откликаться и отвечать. 10-го две защиты, 17-го одна защита, 24-го праздник, мы перенесли две защиты на 25-е. Весь июнь будет напряженная работа. Спасибо! В 11 предлагается начинать заседания.

Иванов Вадим Тихонович: Единственное, что у меня остается надежда, что будут облегчения режима масочно-перчаточного.

Олейников Владимир Александрович: Но система работает.

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо!

Олейников Владимир Александрович: Всем огромное спасибо!


(бурные аплодисменты)

Председатель диссертационного совета
д.х.н., академик РАН

Иванов Вадим Тихонович

Учёный секретарь
диссертационного совета
д.физ.-мат.н.




Олейников Владимир Александрович