

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

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

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 10 февраля 2021 года № 1

О присуждении **Рубцову Юрию Петровичу**, гражданину Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Клеточные и молекулярные механизмы контроля лимфопролиферации и аутоиммунитета» по специальностям 03.01.03 – Молекулярная биология и 03.03.03 -Иммунология принята к защите 28 октября 2020 г., протокол №33 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Рубцов Юрий Петрович, 1973 г. рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук «Мутационный анализ ядерного белка протимозина альфа человека» защитил в 1997 году в диссертационном совете Д 053.05.47 на базе Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (диплом КТ № 050095). Работает старшим научным сотрудником лаборатории молекулярной онкологии Института биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной онкологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

**Купраш Дмитрий Владимирович, д.б.н., профессор, чл.-корр. РАН**, руководитель Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук;

**Филатов Александр Васильевич, д.б.н., профессор**, заведующий Лабораторией иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства;

**Апт Александр Соломонович, д.б.н., профессор**, заведующий Лабораторией иммуногенетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза

дали **положительные** отзывы на диссертацию.

#### **Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, в своем **положительном** заключении, составленном к.б.н. Синенко Сергеем Анатольевичем, старшим научным сотрудником лаборатории молекулярной биологии стволовых клеток, и утвержденном директором института, д.б.н., проф., чл.-корр. РАН Томилиным Алексеем Николаевичем, указала, что по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне диссертация Рубцова Юрия Петровича полностью соответствует требованиям "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением 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), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор Рубцов Юрий Петрович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 03.01.03 – Молекулярная биология и 03.03.03 - Иммунология.

Соискатель имеет 40 опубликованных работ, из них по теме диссертации опубликована 21 научная работа общим объемом 23 печ. листа в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций, из них – 3 обзора, кроме того имеется два патента. Соискателем опубликовано 10 работ в материалах всероссийских и международных конференций. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной либо существенный вклад:

- 1) **Y.P.Rubtsov\***, R.E.Niec\*, S.Josefowicz, L.Li, J. Darce, D.Mathis, C.Benoist, A.Y.Rudensky. **\*-равный вклад.** Stability of the regulatory T cell lineage in vivo. *Science*. (2010) V.24;329(5999), pp.1667-1671.
- 2) **Y.P.Rubtsov**, J.P.Rasmussen, E.Y.Chi, J.Fontenot, L.Castelli, X.Ye, P.Treuting, L.Siewe, A.Roers, W.R.Jr.Henderson, W.Muller, A.Y.Rudensky. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces. *Immunity*. (2008), V.28(4), pp.546-58.
- 3) T.Nenasheva, A.Nikolaev, D.Diykanov, A.Sukhanova, E.Tcyganov, A.Panteleev, I.Bocharova, Y.Serdyuk, L.Nezlin, T.Radaeva, N.Adrianov, **Y.Rubtsov\***, I.Lyadova\*. **\*-равный вклад.** The introduction of mesenchymal stromal cells induces different immunological responses in the lungs of healthy and M. tuberculosis infected mice. *PLoS One*. (2017), V.12(6):e0178983.
- 4) **Y.Rubtsov**, K.Goryunov, A.Romanov, Y.Suzdaltseva, G.Sharonov, V.Tkachuk. Molecular Mechanisms of Immunomodulation Properties of Mesenchymal Stromal Cells: A New Insight into the Role of ICAM-1. *Stem Cells Int*. (2017), 2017:6516854.
- 5) C.Konopacki, Y.Pritykin, **Y.Rubtsov**, C.S.Leslie, A.Y.Rudensky. Transcription factor Foxp1 regulates Foxp3 chromatin binding and coordinates regulatory T cell function. *Nat Immunol*. (2019), V.20(2), pp. 232-242.
- 6) W.R.Jr.Henderson, E.Y.Chi, J.G.Bollinger, Y.T.Tien, X.Ye, L.Castelli, **Y.P.Rubtsov**, A.G.Singer, G.K.Chiang, T.Nevalainen T, A.Y.Rudensky, M.H.Gelb. Importance of group X-secreted phospholipase A2 in allergen-induced airway inflammation and remodeling in a mouse asthma model. *J Exp Med*. (2007) V.204(4), pp.865-877.

- 7) **Y.P.Rubtsov**, A.Y.Rudensky. TGFbeta signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity. *Nat Rev Immunol.* (2007) V.7(6), pp.443-453.
- 8) **Y.P.Rubtsov**, Y.G.Suzdaltseva, K.V.Goryunov, N.I.Kalinina, V.Y.Sysoeva, V.A.Tkachuk. Regulation of Immunity via Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. *Acta Naturae.* (2012) V.4(1), pp. 23-31.
- 9) L.Zhou, J.E.Lopes, M.M.Chong, I.I.Ivanov, R.Min, G.D.Victora, Y.Shen, J.Du, **Y.P.Rubtsov**, A.Y.Rudensky, S.F.Ziegler, D.R.Littman. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgammat function. *Nature.* 2008 V.453(7192), pp.236-240.
- 10) W.R.Jr.Henderson, E.Y.Chi, J.G.Bollinger, Y.T.Tien, X.Ye, L.Castelli, **Y.P.Rubtsov**, A.G.Singer, G.K.Chiang, T.Nevalainen T, A.Y.Rudensky, M.H.Gelb. Importance of group X-secreted phospholipase A2 in allergen-induced airway inflammation and remodeling in a mouse asthma model. *J Exp Med.* (2007) V.204(4), pp.865-877.
- 11) А.С.Авдеева, **Ю.П.Рубцов**, М.В.Черкасова, Е.Л.Насонов. Динамика субпопуляций лимфоцитов, CD4+CD25+CD127- Т-регуляторных клеток у больных ревматоидным артритом на фоне терапии биоаналогом ритуксимаба (Ацеллбия). *Современная ревматология.* (2020), Т. 14, № 2, С. 20-26.

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы:**

**1. Отзыв официального оппонента Купраша Д.В., отзыв положительный, содержит следующие замечания:** Приведенный в диссертации раздел про белок Foxp1 чересчур подробный (30% объема «Результатов и обсуждения»), что затрудняет чтение и понимание значимых результатов и не соответствует вкладу автора. Непонятно желание автора привести сложные результаты биоинформатического анализа, которые заслуживают удаления. Напротив, в обзоре литературы нет информации о Foxp1, зато есть солидный раздел по микро-РНК, о которых речь в диссертации не идет. Эта диспропорция непонятна.

Раздел "Материалы и методы" занимает около 20 страниц, а "Результаты и обсуждение" - около 80, причем эти разделы представляют собой, по сути, пересказ отдельных статей. Материалы и методы структурированы не по методическим группам, а по проектам, в качестве иллюстраций к разделу с результатами использованы рисунки из журнальных статей в оригинальном виде, в том числе с английскими, очень мелкими подписями. Своя логика и удобство в последовательном рассмотрении проектов есть, но не хватает более интегрированного изложения и лаконичных и понятных иллюстраций. Есть впечатление, что автор механически пересказал содержание зарубежных статей переведя их английского, что, вместе с качеством некоторых рисунков несколько портит впечатление. Перечислены оформительские недочеты: так, doi статьи номер 2 в автореферате оборван; праймеров для ПЦР из дополнительного материала не загружаются по указанному в работе адресу. Уровень выполненных в России работ и публикаций пока не дотягивает до уровня работ в лаборатории Руденского, в частности это касается работ по МСК, проведенных лишь на клетках, а не в контексте целого организма. Задан вопрос о возможных линиях трансгенных мышей, которые можно было бы применить для исследования действия МСК на лимфоциты?

**2. Отзыв официального оппонента Апта А.С., отзыв положительный, содержит следующие замечания:** В работе Ю.П. Рубцова, кроме почти всех замечательно

поставленных экспериментов, видится одна шероховатость, связанная с использованием линии мышей с не самым удачным для проявления аллергических реакций в респираторном тракте генетическом фоне. Предложено провести аналогичное исследование на мышах с индукцией овалбумином астмы в трансгенных мышах с OVA-специфичными TCR и простой аллергии к OVA, на генетической основе BALB/c, поскольку у этих мышей есть природный генетический сдвиг иммунного ответа по пути Th2. Выказано пожелание более внимательно подходить к редактированию текста, поскольку выявлены жаргонные выражения, странные сокращения и стилистические ошибки.

**3. Отзыв официального оппонента Филатова А.В., отзыв положительный, содержит следующие замечания:** Насколько уместно в этом выражении использовать указание на CD4+ клетки при обсуждении Cre-опосредованного кондиционного нокаута генов в регуляторных CD4+Foxp3+ Т-клетках? Ведь CD4 ко-экспрессирован на Treg и не создает никаких дополнительных условий для нокаута. Это упоминание о CD4 является излишним и его можно опустить. Это более верно по сути. Автор проводит разделение между «эффektorными» и «регуляторными» Т-клетками. К первым автор относит Т-киллеры и Т-хелперы, а к последним Treg. В отношении регуляторных клеток Рубцов Ю.П. использует довольно распространённую классификацию, поэтому мое замечание обращено не столько к автору, сколько является дискуссионным. Неправомерно отнесение ревматоидного артрита и некоторых других аутоиммунных патологий к «лимфопролиферативным заболеваниям», а также противопоставление «фенотипических и активационных маркеров». Рисунок 4-2 в диссертации и рисунок 2 в автореферате называется, как «Мыши для индуцируемого мечения ...», однако мышей на рисунке нет.

**4. Отзыв ведущей организации, отзыв положительный, содержит следующие замечания:** Предпочтительно давать расшифровку названий генов и белков при первом упоминании в названии глав и в тексте. К примеру, транскрипционный фактор Foxp1, протеинкиназа Akt, интерлейкин IL2 и так далее. В тексте работы присутствуют плохо русифицированные термины. Также приведены замечания по неточностям и ошибкам в тексте, которые носят минорный характер. Обозначения на оригинальных рисунках не русифицированы, что немного затрудняет прочтение.

**5. Отзыв на автореферат руководителя лаборатории клеточной биологии Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины «Федерального медико-биологического агентства», чл.-корр. РАН, д.б.н., проф. Лагарьковой Марии Андреевны.** Отзыв положительный, содержит ряд замечаний: есть небольшие нарекания к качеству работ, выполненных в России, а не за рубежом, замечания к качеству иллюстраций и подписей к ним, а также опечаткам и неудачной русификации.

**6. Отзыв на автореферат заместителя генерального директора, директора института экспериментальной кардиологии Национального медицинского исследовательского**

центра кардиологии МЗ РФ, чл.-корр. РАН, д.мед.н., проф. **Парфеновой Елены Викторовны**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания в связи с опечатками, ошибками в сокращениях и не всегда удачной конвертации текста на английском в текст на русском.

7. Отзыв на автореферат заместителя генерального директора, директора Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины, заведующего отделением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «ННПЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ, д.мед.н., проф. **Масчана Михаила Александровича**. Отзыв положительный, содержит ряд замечаний: В тексте встречаются опечатки и неудачные выражения, видимо связанные с попыткой перейти с английского на русский. Часть работы, описывающая результаты исследования функции Foxp1 в Treg, излишне детализирована.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их достижениями в областях науки, соответствующих теме представленной диссертации. Это подтверждается наличием у них значительного количества публикаций в ведущих российских и международных научных журналах и изданиях. Стоит отметить, что сотрудники Института цитологии ведут работы по изучению дифференцировки и функций стволовых и прогениторных клеток, в том числе миелоидного и лимфоидного происхождения, на клеточном и молекулярном уровне, а также с помощью трансгенных животных и модифицированных клеточных линий. Научные интересы Купраша Д.В. и сотрудников руководимой им лаборатории тесно связаны с изучением функции факторов транскрипции и цитокинов в функционировании иммунной системы в норме и при различных патологиях. Апт А.С. является ведущим мировым специалистом по иммуногенетике лабораторных мышей и ее связи с восприимчивостью к различным видам микобактерий, он и его сотрудники исследуют роль различных популяций иммуноцитов, в том числе регуляторных Т-клеток в патогенезе туберкулеза. Филатов А.В. является одним из ведущих специалистов в области иммунологии человека, он много лет успешно изучает особенности иммунитета к опухолям и вирусам. Квалификация и большой опыт работы в приведенных выше областях позволяет им объективно судить о научной новизне, а также теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований соискателю удалось совершить ряд открытий в области молекулярной биологии и иммунологии, которые имеют важное значение для фундаментальной науки и медицины. Основные научные достижения Ю.П. Рубцова связаны с исследованиями регуляторных Т-клеток (Treg), которые участвуют в контроле аутоиммунных заболеваний человека и животных. Соискатель впервые установил функцию интерлейкина-10, секретируемого Treg, в поддержании иммунологического баланса в физиологических условиях, в частности, что продукция IL-10 Treg не важна для

поддержания системной толерантности, но необходима для контроля воспаления в барьерных тканях (кишечнике, легких и коже). Ю.П. Рубцов создал новую экспериментальную модель, с помощью которой впервые в мире проанализировал стабильность фенотипа и функций регуляторных Т-клеток в нормальных условиях, и в условиях индуцированного воспаления и лимфопении, используя генетическое необратимое маркирование регуляторных клеток. Полученные соискателем новые данные об удивительной стабильности популяции Treg мыши имеют важное теоретическое и практическое значение, поскольку являются основанием для использования этих клеток для терапии аутоиммунных заболеваний.

Соискатель показал, что молекула адгезии ICAM-1 на поверхности мезенхимных стромальных клеток человека участвует в ингибировании активации и пролиферации лимфоцитов. Данное открытие существенно расширяет современные представления о механизмах иммуносупрессии, которые реализуются на уровне ткани и представляет интерес для специалистов в области регенеративной медицины.

На выборке пациентов с ревматоидным артритом Рубцов Ю.П. продемонстрировал связь тяжести заболевания, прогноза и эффективного ответа на терапию метотрексатом с количеством и активированным фенотипом регуляторных Т-клеток крови. Этот результат подтверждает, что фенотипический и количественный анализ популяции Treg крови можно применять для диагностики ревматоидного артрита, предсказания прогноза и выбора эффективных методов терапии, и имеет высокую практическую значимость, поскольку может применяться в клинике.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что работы выполнены на высоком экспериментальном уровне, результаты воспроизводимы в различных условиях, а методы исследования, предложенные и разработанные соискателем, прошли независимую экспериментальную проверку в лабораториях по всему миру и используются повсеместно.

Личный вклад соискателя состоит в том, что он принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов. Весь экспериментальный материал получен лично автором и руководимыми им аспирантами и студентами, за исключением широкомасштабного секвенирования и анализа массивов данных по секвенированию, проведенных в Отделе компьютерной и системной биологии Центра онкологических исследований имени Слоана-Кеттеринга в Нью-Йорке (США), под руководством Кристины Лесли, а также экспериментов по заражению лабораторных животных микобактериями, которые были проведены сотрудниками лаборатории доктора медицинских наук Ирины Лядовой в ЦНИИТ в Москве. Анализ полученных данных проведен лично соискателем, так же, как и подготовка основных публикаций по диссертационной работе, которая выполнена лично или при непосредственном участии автора.

На основании вышеизложенного Диссертационный совет Д 002.019.01 заключает, что диссертационная работа Рубцова Юрия Петровича является законченной научно-квалификационной работой в области молекулярной биологии и иммунологии и вносит существенный вклад в развитие знаний о механизмах контроля аутоиммунных реакций в контексте ткани и целого организма, что имеет как фундаментальное научное значение, так и практическое значение для разработки селективных методов терапии аутоиммунных заболеваний.

По актуальности, новизне, уровню изложения, теоретическому и практическому значению диссертация Рубцова Ю.П. полностью соответствуют всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

На заседании 10 февраля 2021 г. Диссертационный совет Д 002.019.01 принял решение присудить Рубцову Юрию Петровичу ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 27 человек, из них 7 докторов наук - по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, 5 докторов наук - по специальности 03.03.03 - иммунология, участвовавших в заседании, из 35 человек, входящих в состав совета (дополнительно введены на разовую защиту 5 докторов наук по специальности 03.03.03 – иммунология), проголосовал: за – 26, против – 0, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель  
диссертационного совета  
академик РАН

Иванов Вадим Тихонович

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор физ.-мат.наук



Олейников Владимир Александрович

11 февраля 2021 г.