

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Погорелого Михаила Валерьевича** на тему **«Анализ вклада генетических факторов и факторов окружающей среды в формирование репертуара Т-клеточных рецепторов монозиготных близнецов»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 — молекулярная биология.

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Погорелого М.В. посвящена новым молекулярно-биологическим подходам к изучению репертуара антигенраспознающих рецепторов Т-лимфоцитов человека с использованием технологий высокопроизводительного секвенирования. Излагаются результаты исследования Т-клеточного звена адаптивного иммунитета трех пар однояйцевых близнецов, полученные благодаря применению оригинальной системы пробоподготовки библиотек кДНК альфа- и бета-цепей Т-клеточных рецепторов, а также программного пакета на языке R для анализа полученных данных. Полученные автором данные и разработанная математическая модель сборки генов Т-клеточных рецепторов позволили сделать оригинальные биологические наблюдения, касающиеся онтогенеза Т-клеточного репертуара человека во внутриутробном развитии (обмен пуповинной кровью между монозиготными близнецами), при взрослении (фракция пренатальных долгоживущих клонов, которые сохраняются в репертуаре наивных Т-лимфоцитов взрослых) и ответа на вирусную инфекцию (клоны ответивших на инфекцию Т-клеток, обладающие сходной структурой бета-цепей Т-клеточных рецепторов, предположительно вследствие конвергентной рекомбинации). Кроме того, продемонстрирована эффективность разработанной теоретической модели и биоинформатических инструментов при анализе информативности маркеров Т-клеточных лейкозов и при идентификации вирус-специфических субпопуляций Т-лимфоцитов. Все полученные данные являются новыми и крайне актуальными для развития молекулярно-биологической базы фундаментальной иммунологии и ее практических применений.

Структура и объем диссертации

Диссертация Погорелого М.В. построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, благодарностей, списка сокращений и списка литературы. Работа изложена на 100 страницах, содержит 28 рисунков и 12 таблиц. Список цитируемой литературы включает 96 источников.

Во «Введении» автор аргументирует актуальность темы, формулирует цели и задачи своей работы, оценивает научную новизну и потенциальную практическую значимость результатов. Приведена информация об апробации работы на 5 международных конференциях, а также список из 8 статей в рецензируемых журналах, опубликованных по теме работы.

В обзоре литературы, занимающем 23 страницы, изложены основные сведения об устройстве молекул Т-клеточного рецептора и формировании разнообразия кодирующих их генов, уделено внимание математическому моделированию этих процессов, особенностям адаптивного иммунитета близнецов, основным сведениям об онтогенезе адаптивного иммунитета человека и мониторингу противовирусного ответа. Яркой особенностью данного обзора литературы является множество ссылок на работы из списка публикаций по теме диссертации, что связано не с любовью автора к самоцитированию, а с тем, что работа выполнена на переднем крае мировой молекулярной биологии и иммунологии, ряд разработанных методов являются пионерскими, и прочесть о них, кроме статей автора, негде. Данное обстоятельство свидетельствует о высоком научном уровне диссертации Погорелого М.В., а его осознание производит на читателя весьма сильное впечатление. Следует также отметить лаконичность изложения, которая сочетается с четкой логикой и ясными формулировками.

Раздел "Материалы и методы" автор сумел уместить в 11 страниц, разделив этот объем примерно поровну между лабораторными и биоинформатическими методами. Лаконичность стиля не позволяет рекомендовать данный раздел в качестве методического пособия, однако в нем приведены все ключевые сведения, включая последовательности синтетических олигонуклеотидов, схемы устройства ПЦР продуктов и блок-схемы лабораторных и компьютерных алгоритмов.

Раздел "Результаты и обсуждение" является основным и занимает 45 страниц, что позволяет достаточно подробно изложить и обсудить разработанные протоколы и алгоритмы, рассказать о полученных данных и их анализе и обсудить сделанные наблюдения, их следствия и возможное применение. Раздел хорошо проиллюстрирован, особо следует отметить продуманные подписи под рисунками, облегчающие их понимание, и отличный стиль рассказа о математическом моделировании сборки молекул Т-клеточных рецепторов. С одной стороны, автор сообщает все необходимые детали, не допуская чрезмерного упрощения, а с другой -

не углубляется в детали и постоянно делает обобщения и расставляет акценты, позволяющие читателю не терять связи между математическими тонкостями комбинаторики, молекулярными особенностями Т-клеточного распознавания и биологией иммунной системы.

В целом, диссертационная работа Погорелого М.В. производит прекрасное впечатление. Исследование выполнено на высоком методическом уровне, сформулированные в работе выводы базируются на обширном экспериментальном материале, полученном как при помощи методов молекулярной биологии, так и в результате интенсивного компьютерного моделирования.

Научная новизна и научно-практическая значимость полученных результатов.

На мой взгляд, главная ценность диссертационной работы Погорелого М.В. заключается в разработке новых методов анализа Т-клеточного репертуара. Основной объект исследования, однояйцевые близнецы, в данном случае выступает как модельная система, позволяющая протестировать различные варианты анализа, сверяя результаты по идеальному созданному природой контролю. Полученные данные об онтогенезе Т-клеточного иммунитета человека согласуются с современными представлениями, углубляют их и интересны сами по себе. Однако наиболее захватывающие перспективы открываются в области использования разработанных методов для анализа Т-клеточных репертуаров при различных патологических состояниях, таких, как рак, аутоиммунитет, опасные для жизни внутриклеточные инфекции. Несколько примеров такого рода имеются в работе, и нет сомнений, что спектр будущих возможностей исключительно широк. Таким образом, сделанные в работе выводы имеют как теоретическую, так и практическую значимость.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием комплекса современных методов исследований, тщательным анализом полученных данных и корректными способами их математической обработки. Выводы диссертационной работы основаны на полученных результатах и корректно сформулированы, содержание автореферата полностью отражает основные результаты и выводы диссертации.

Результаты диссертационной работы были доложены на представительных международных конференциях. Количество статей, уровень журналов, в которых они

опубликованы, и показатели цитирования однозначно указывают на выдающийся уровень работы и высокий интерес к ней со стороны мирового молекулярно-биологического сообщества.

В работе Погорелого М.В. не удалось обнаружить существенных недостатков. Имеются лишь замечания по орфографии (написание союза "также" отдельно) и пунктуации (регулярное отсутствие запятых, отделяющих части сложных предложений). Эти ошибки в русском языке, типичные для современной молодежи, не искажают смысла написанного и совершенно не мешают наслаждаться уже упомянутым выше прекрасным стилем изложения материала.

Заключение

На основе всего вышеизложенного можно сделать вывод, что диссертационная работа Погорелого М.В. является цельным законченным научным исследованием и соответствует критериям, установленным «Положением 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; 29.05.2017 г. № 650), а сам Михаил Валерьевич, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 — молекулярная биология.

Официальный оппонент

Купраш Дмитрий Владимирович,



главный научный сотрудник лаборатории
передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук (ФГБУН ИМБ РАН),
доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, член-корр. РАН

119991, Москва, ул. Вавилова, 32
8(499) 135-9770, kuprash@eimb.ru

Подпись д.б.н., член-корр. РАН Купраша Д.В.

«Удостоверяю»

Ученый секретарь ФГБУН ИМБ РАН
к.в.н. **Бочаров А.А.**

