

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук**

СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета 24.1.037.01 при ИБХ РАН
20 октября 2021 года

Защита диссертации
на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Куст Софьи Алексеевны

по теме: **Получение, анализ свойств и иммунологической роли
субпопуляции NK-клеток, экспрессирующих HLA-DR**

Специальность 03.01.03 – «молекулярная биология»

Москва - 2021

СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета 24.1.037.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 20 октября 2021 года.

Председатель
Диссертационного совета д.х.н., академик РАН Иванов Вадим Тихонович

Учёный секретарь
Диссертационного совета д.ф.-м.н., Олейников Владимир Александрович

Из 30 членов совета присутствует 23 человека, из них докторов по профилю диссертации – 8.

- | | | |
|----------------------------|----------------------------------|---------|
| 1. Академик РАН, д.х.н. | Иванов Вадим Тихонович | (1.4.9) |
| 2. Д.физ.-мат.н. | Ефремов Роман Гербертович | (1.4.9) |
| 3. Член-корр. РАН, д.х.н. | Липкин Валерий Михайлович | (1.5.6) |
| 4. Д.физ.-мат.н. | Олейников Владимир Александрович | (1.5.6) |
| 5. Д.б.н. | Ажикина Татьяна Леодоровна | (1.5.3) |
| 6. Д.х.н. | Безуглов Владимир Виленович | (1.5.6) |
| 7. Д.х.н. | Белогуров Алексей Анатольевич | (1.5.3) |
| 8. Академик РАН, д.х.н. | Габибов Александр Габибович | (1.5.6) |
| 9. Академик РАН, д.б.н. | Деев Сергей Михайлович | (1.5.3) |
| 10. Академик РАН, д.х.н. | Донцова Ольга Анатольевна | (1.5.3) |
| 11. Член-корр. РАН, д.б.н. | Завриев Сергей Кириакович | (1.5.6) |
| 12. Д.б.н. | Зарайский Андрей Георгиевич | (1.5.3) |
| 13. Д.х.н. | Зубов Виталий Павлович | (1.5.6) |
| 14. Д.б.н. | Лебедев Юрий Борисович | (1.5.3) |
| 15. Академик РАН, д.б.н. | Лукьянов Сергей Анатольевич | (1.5.3) |
| 16. Д.х.н. | Овчинникова Татьяна Владимировна | (1.4.9) |
| 17. Д.х.н. | Румш Лев Давыдович | (1.5.6) |
| 18. Д.б.н. | Сапожников Александр Михайлович | (1.5.3) |
| 19. Д.х.н. | Смирнов Иван Витальевич | (1.4.9) |
| 20. Д.х.н. | Уткин Юрий Николаевич | (1.4.9) |
| 21. Член-корр. РАН, д.х.н. | Цетлин Виктор Ионович | (1.4.9) |
| 22. Д.х.н. | Шахпаронов Михаил Иванович | (1.4.9) |
| 23. Д.х.н. | Ямпольский Илья Викторович | (1.4.9) |

Иванов В.Т. (председатель):

Дорогие коллеги, доброе утро. Я докладываю, что у нас есть все основания приступить к работе. Кворум налицо. Повестка дня у всех на руках. Она абсолютно понятная. Итак, переходим к защите. Это Софья Алексеевна Куст. Название читать не буду, у вас всех на руках это название имеется. По протоколу Владимир Александрович должен нам доложить материалы личного дела. Что там у нас есть?

Олейников В.А. (ученый секретарь):

Так, ну Софья Алексеевна Куст, Российская Федерация, гражданка Российской Федерации. Окончила МГУ имени Ломоносова по специальности «Биохимия» в 2015-м году. С 2015 по 2019 год – инженер, с 2019 г. по настоящее время – младший научный сотрудник лаборатории клеточных взаимодействий нашего института. С 2015 по 2019 – аспирант нашего института. Кандидатский экзамен по специальности «Молекулярная биология» сдан на «отлично». Работа выполнена в лаборатории клеточных взаимодействий нашего института. И научный руководитель диссертационной работы - Коваленко Елена Ивановна. По теме диссертации опубликовано 8 статей в рецензируемых научных журналах. Объявление о защите, автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя: 25 июня 2021-го года, и все необходимые документы в деле есть.

Иванов В.Т. (председатель):

Всё штатно. Есть какие-то уточнения, вопросы? Обычно не бывает. Сегодняшний день, по-видимому, не исключение. Тогда, Софья Алексеевна, вам слово для доклада. 20 минут, крайне желательно.

Куст С.А. (соискатель):

(Излагает основные положения диссертационной работы)

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо за доклад. Есть ли вопросы к докладчику? Татьяна Владимировна, прошу. Желательно в микрофон задавать, чтоб все слышали.

Овчинникова Т.В. (член совета):

Спасибо большое. Прекрасная работа, очень интересная. И список публикаций очень хороший. Скажите, пожалуйста, вот вы, когда анализировали HLA-DR экспрессию, у вас было две группы доноров: менее 5% зрелых НК-клеток и более 5%. Какие были

минимальные значения у группы, у которой менее 5%, и какие были максимальные значения?

Куст С.А. (соискатель):

Можно сейчас для того, чтобы не быть голословной, вернуться на слайд. Немножко я перестаралась. Здесь вот плюс-минус видно, что минимальные значения – это около нуля. Действительно, там был, по-моему, один донор, где была одна десятая, условно, зарегистрирована. Но, с учётом погрешности, можно считать, что ноль. Это в группе 1. Максимальные: ну максимум, наверно, 3.5%, может быть, было, – где-то так – 4%. В группе 2, соответственно, минимальное – это там пять с чем-то было (5.5% или 6%), а максимальное – это около 20% HLA-DR позитивных НК-клеток.

Овчинникова Т.В. (член совета):

Ах, вот так? Да, вопрос: а почему тогда именно 5% вы выбрали как?..

Куст С.А. (соискатель):

Да, хороший вопрос. Его также все оппоненты мне задали. Если позволите, я, когда буду отвечать оппонентам, я там подробно это объясню, – кстати, с картинками. Там будет всё понятно.

Иванов В.Т. (председатель):

Есть ли ещё вопросы? Да, прошу.

Белогуров А.А. (член совета):

А верните, пожалуйста, слайд с трансактиватором, СПТА. Да, вот этот, спасибо большое. Вот согласно вашим данным у вас экспрессируется... напомним, изоформа?

Куст С.А. (соискатель):

Три.

Белогуров А.А. (член совета):

Изоформа три. А в каких клетках, в какой момент вы смотрели, что именно эта изоформа экспрессируется? То есть это в свежевыделенных или в уже активированных?

Куст С.А. (соискатель):

Нет, мы смотрели в активированных цитокинами НК-клетках.

Белогуров А.А. (член совета):

А на протяжении какого времени? Потому что у вас такие очень разные периоды. У вас там есть неделя, есть 5 недель.

Куст С.А. (соискатель):

Ну стандартно... Нет, 5 недель – это только для клонов. Стандартная стимуляция бывает 3 или 6 дней. Но здесь, конкретно, 6 дней смотрели.

Белогуров А.А. (член совета):

Шесть. А как вы думаете, вот если сравнить свежесыведенные, допустим, активированные в течение недели и 5 недель, может ли быть такое, что будет переключаться изоформа? Потому что, в принципе, такие, по-моему, описаны события?

Куст С.А. (соискатель):

Возможно. Но вот по нашим данным – я просто их сюда не привела – я делала ПЦР для свежесыведенных НК-клеток, но там вообще было всё по нулям.

Белогуров А.А. (член совета):

Ну то есть с течением времени гипотетически какая-то изоформа может быть другая, но пока это не совсем понятно?

Куст С.А. (соискатель):

Возможно, но для Т-клеток я вот не слышала, чтоб такое было показано, чтоб там что-то переключалось. Там как есть изоформа 3, она при необходимости включается и работает.

Белогуров А.А. (член совета):

То есть она уже стабильна на протяжении всей жизни, грубо говоря, этой клетки.

Куст С.А. (соискатель):

Ну да, ну, то есть она не экспрессируется в спокойном состоянии. А если клетка активируется, она начинает экспрессироваться.

Белогуров А.А. (член совета):

Спасибо большое.

Иванов В.Т. (председатель):

Есть ли ещё вопросы? Больше я не вижу. Да, больше нет. Тогда спасибо, можете пока немножко отдохнуть. Переходим к следующим этапам нашей работы. По протоколу дальше имеет право научный руководитель охарактеризовать своего подопечного. Елена Ивановна хочет сказать несколько слов? Я её не вижу.

Сапожников А.М. (член совета):

Елена Ивановна, к сожалению, сегодня по семейным обстоятельствам не может присутствовать. Но вот у Владимира Александровича есть отзыв научного руководителя. Если потребуется, его можно зачитать. Но, тем не менее, я тоже вот готов сказать несколько слов про соискателя сегодняшнего, про Софью Куст, ну которая была в самом начале, когда пришла в нашу лабораторию, была Ерохиной.

Это случилось давно, когда Соня пришла в нашу лабораторию. Она была студенткой 3-го курса биофака, кафедры иммунологии МГУ. И как-то она очень гармонично влилась в коллектив нашей лаборатории и освоила всё, что надо было освоить. Сделала блестящую курсовую работу – она была тогда, тогда был специалитет – и затем дипломную работу. Защитила эту работу, красный диплом получила и поступила в аспирантуру в наш институт. И я могу назвать Соню как образцово-показательную студентку. С самого начала – потом уже стала аспиранткой – она... ну просто у неё всё горело в руках; руки и голова замечательные. Коммуникабельность, взаимовыручка, взаимопомощь, человеческие качества тоже на большой высоте. Поэтому я уверен, что и впереди Софью ждёт хорошая научная карьера.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо. «Горячее» – в хорошем смысле слова, «горело в руках». Ну мы учтём всё, что было сказано. Сейчас нам Владимир Александрович зачитает ряд отзывов, заключение.

Олейников В.А. (ученый секретарь):

Ну, во-первых, действительно, у меня в руках вот отзыв Коваленко Елены Ивановны. Я думаю, что нет смысла зачитывать, потому что тут сказано было достаточно исчерпывающе, на мой взгляд. Нет смысла, да?

(Зачитывает заключение организации, где выполнена диссертация)

Теперь далее, заключение. Работа выполнена в нашем институте, и, соответственно, у меня вот заключение, которое дало заседание некоего семинара отдела. Заключение достаточно хвалебное. Ну подчёркивается, что... некие биографические факты здесь, естественно, отмечают, о которых уже говорилось. Закончила Московский государственный университет, научный руководитель Коваленко Елена Ивановна. Тема утверждена 2-го декабря ещё 2015-го года. Далее говорится об актуальности исследования. Отмечается научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы. Всё это на семинаре было достаточно подробно рассмотрено. Степень достоверности; личное участие. Основные результаты опубликованы в 8 статьях, которые были проанализированы. Работа соответствует представленной специальности, достаточно полно опубликована. И в целом, в заключении говорится, что рекомендуется работа к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология. Присутствовало на заседании 21 человек, единогласное голосование. Секретарь семинара Елена Викторовна Свирщевская. Председатель – Сергей Михайлович Деев. И всё это подписано Ямпольским, зам. директора, и утверждено директором нашего института Александром Габибовичем Габибовым. Это что касается заключения.

(Зачитывает отзыв ведущей организации)

Теперь ведущая организация. Ведущей организацией являлся Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова. Отзыв полностью положительный. И также здесь пишется актуальность темы исследования. Значит, подчёркивается, что диссертационная работа посвящена изучению механизмов появления фенотипических и функциональных особенностей HLA-DR экспрессирующих НК-клеток человека. НК-клетки играют важную роль в защите организма от вирусных, бактериальных и других патогенов. Переход НК-клеток из состояния покоя в состояние активации может сопровождаться запуском пролиферации НК-клеток, увеличением их функционального ответа, повышением экспрессии активируемых рецепторов и других поверхностных маркёров, в том числе молекулы HLA-DR. Вот функциональная значимость этой молекулы до сих пор оставалась малоизученной. В частности, актуальным является вопрос о способности HLA-DR+ НК-клеток стимулировать антигенспецифичный Т-клеточный ответ. Ну в общем-то, этим как-то обосновывается актуальность данного исследования.

По поводу научной новизны. В диссертационной работе Куст охарактеризовано два пути циркулирующих в периферической крови человека HLA-DR-позитивных НК-клеток... во-первых, значит, два пути. Во-вторых, разработаны эффективная методика экспансии HLA-

DR-позитивных NK-клеток *in vitro*. Впервые показано, что *in vitro* экспрессия HLA-DR может запускаться не только экзогенным IL-21, но и продуцироваться самими NK-клетками. Помимо этого, в диссертационной работе показано, что в крови пациентов, больных туберкулёзом, доля HLA-DR-позитивных NK-клеток повышена, по сравнению со здоровыми донорами. Этим подчёркивается новизна данной работы.

Достоверность. Методическая часть работы Куст выполнена на высоком уровне с применением большого набора современных молекулярно-биологических методов. Экспериментальные данные описаны чётко и ясно. Материал логично выстроен. Результаты исследования обработаны корректно, с использованием адекватных статистических методов.

Ну и вот я, читая вот этот вот отзыв, только в одном месте нашёл какие-то замечания, и именно как раз по поводу в разделе «достоверности». При ознакомлении с текстом диссертации возникло несколько замечаний, которые не носят принципиального характера. Так, при анализе экспрессии HLA-DR *in vivo* на NK-клетках различной степени дифференцировки (это глава 3.1) не совсем понятно, почему разделили здоровых индивидов на 2 группы по доли клеток HLA-DR⁺ в субпопуляции CD56, CD57 более и менее 5%. В разделе 3.3 неточно объяснено, почему выбрано для анализа только 20 наиболее значимых дифференциально-экспрессирующих генов. Стоит отметить также несколько стилистических неточностей, не совсем корректное использование некоторых терминов и огрехи в некоторых рисунках. Но приведённые замечания не влияют на общую положительную оценку работы и не снижают её научную и практическую значимость. Работа является завершённым оригинальным научным трудом, заслуживающим высокой оценки.

Ну и далее пишется о значимости полученных результатов для науки и практики. Считается, что имеет не только фундаментальное, и практическое значение. Позволяет расширить наше знание в мало описанной в литературе субпопуляции NK-клеток, экспрессирующих на своей поверхности молекулу HLA-DR. Ну и рекомендации по использованию даны. Ну, и в заключение, по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Софьи Алексеевны Куст по теме... представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, результаты которого имеют существенное значение для современной иммунологии и молекулярной биологии.

Таким образом диссертационная работа соответствует критериям. Далее перечислены критерии со ссылкой на Постановления Правительства Российской Федерации. Отзыв на диссертацию обсуждён и одобрен на заседании научно-исследовательской лаборатории «Медицинская геномика» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Пирогова» Минздрава. Подписано: кандидат биологических наук, доцент Кулакова Ольга Георгиевна. И утверждено проректором по научной работе, доктором биологических наук профессором Ребриковым Д.В.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо. Тут было замечание одно: не совсем понятно там и так далее. Софья Алексеевна, просьба ответить на замечание.

Куст С.А. (соискатель):

Да, я как раз с картинками сейчас отвечу. На первое замечание и, по совместительству, вопрос Татьяны Владимировны, – почему, собственно, разделили по принципу 5%. Начну чуть-чуть издалека. В целом, вот если посмотреть на экспрессию HLA-DR на НК-клетках (я, к сожалению, забыла подписать оси; здесь снизу – HLA-DR, вертикальная ось – CD56, маркер НК-клеток). Если смотреть на свежевыделенные НК-клетки, на экспрессию HLA-DR, то достаточно ярко видно, что субпопуляция CD56bright, она довольно сильно сдвигается, да, по этой экспрессии. И тут понятно, то все эти НК-клетки, достаточно большая их часть экспрессирует HLA-DR. А в субпопуляции CD56dim обычно представлены какие-то разрозненные там отдельные точки. И у каких-то доноров их было больше, у каких-то меньше. У каких-то доноров они группировались в такую, тоже заметную, субпопуляцию. И хотелось понять: можем ли мы как-то разделить вот тех доноров, у которых этих HLA-DR+ НК-клеток побольше, среди более зрелых, и тех, у кого их поменьше.

И почему мы, собственно выбрали делить именно по этой терминально дифференцированной субпопуляции, а не по всем НК-клеткам. Поскольку по всем НК-клеткам... если мы посмотрим на распределение значений субпопуляции HLA-DR+ вот у всех доноров, не разделяя их на группы, да, то, если смотреть по всем клеткам, тут, на низких процентах, довольно гомогенное распределение. Есть какие-то вылеты. Но даже, если мы там эти вылеты выделим в отдельную группу доноров, то не очень понятно, как это с функциональной точки зрения объяснить. Если же мы рассмотрим терминально дифференцированную субпопуляцию, то как я говорила в докладе, среди них много НК-

клеток адаптивных, которые могут, в том числе, отвечать на активацию цитомегаловируса, на активацию... на реактивацию цитомегаловируса, может происходить иммунный ответ на какую-то другую инфекцию. И они активируются, начинают экспрессировать HLA-DR. И вот их процентное количество – этих клеток – повышается, и таким образом можно как-то функционально обосновать, почему у этих доноров клеток больше, а у этих – меньше. И здесь мы видим, что часть доноров ложится в плюс-минус нормальное распределение – это уже касательно вопроса про 5%. Часть доноров ложится в более-менее нормальное распределение, остальные формируют такой вот своеобразный хвост. Мы вот собственно решили хвост отсечь. И те, кто входили вот в этот растянутый хвост – это была группа 2; те, кто более-менее вписывались в нормально распределение – это была группа 1. И достаточно хорошо они разделялись. Единственно, тут вот одна точка, которая может вызвать вопросы.

Но тут мы посмотрели также на другую характеристику. Я тоже в докладе упоминала, что если мы отдельно рассмотрим HLA-DR+ субпопуляцию, то внутри неё клетки тоже как-то распределены по стадиям дифференцировки. И в группе 1 – там около трети, иногда больше, составляют ранние клетки CD56bright, а в группе 2 прям очень много бывает клеток терминально дифференцированных: CD56dimCD57+. И это усреднённые данные, которые я показывала в докладе.

А если мы посмотрим на собственно данные по всем донорам, то здесь чётко видно, что в группе 1 действительно HLA-DR+ NK-клетки либо равномерно, примерно, по трети распределяются по разным стадиям дифференцировки, либо идёт перекося в сторону клеток CD56bright. А у всех доноров, которых мы объединили в группу 2, идёт заметное преобладание клеток, терминально дифференцированных. И это как бы дополнительно подтверждало обоснованность нашей вот этой линии в 5%. И вот эта вот «вопросительная» точка, которая вот тут, почти на линии, получается – это донор 3 (третья строчка в группе 2). Но тут очевидно видно, что тут почти 80% NK-клеток HLA-DR+ терминально дифференцированы. То есть он 100% попадает во 2 группу.

Иванов В.Т. (председатель):

Эта картинка была в диссертации, или вы сейчас её нарисовали в ответ на замечание?

Куст С.А. (соискатель):

Часть картинки была в диссертации, а остальное я подготовила, да, для ответа на замечание.

Иванов В.Т. (председатель): Понятно. Спасибо. Пока вы можете ещё подождать и собраться с силами. Есть ли замечания? Есть ли отзывы на автореферат, на диссертацию?

Олейников В.А. (ученый секретарь):

На автореферат отзывы не поступали.

Иванов В.Т. (председатель):

Можем двигаться дальше. Тогда давайте заслушаем официальных оппонентов. Александр Васильевич Филатов. Это Институт иммунологии, доктор биологических наук.

Филатов А.В (официальный оппонент):

(Излагает отзыв. Отзыв положительный).

Уважаемые коллеги. Несколько лет тому назад мне довелось быть рецензентом дипломной работы, которую сделала Софья Алексеевна. И я уже тогда отметил, насколько хороша её работа. И я так высказался о том, что у Софьи Алексеевны очень большой потенциал к росту. И вот сейчас уже, ознакомившись с диссертационной работой, я могу сказать, что я не ошибся, и Софья Алексеевна выросла в такого настоящего научного сотрудника и представила на ваш совет добротную диссертацию.

Если говорить о собственно самой диссертации, то, конечно, она вполне актуальна. Дело в том, что НК-лимфоциты, они являются такой очень важной составной частью врождённого иммунитета. НК-лимфоциты борются с модифицированными клетками, с трансформированными клетками, и теми, которые модифицированы вирусной инфекцией и некоторыми другими патогенами. И сейчас НК-лимфоциты уже стали активно использоваться в различных иммуно-терапевтических подходах, когда НК-лимфоциты выделяют, *ex vivo* их проводят экспансию, потом обратно вводят. И вот для выполнения таких работ очень важны сведения о функциональных свойствах НК-лимфоцитов, особенно вот тех свойствах, которые наблюдаются при культивировании *ex vivo*. И, собственно, вот этому вопросу как раз и посвящена представленная диссертация.

И, конечно, в этой диссертации есть очевидная новизна. Дело в том, что на НК-лимфоцитах присутствует довольно большое количество различных маркёров, рецепторов, которые были открыты сравнительно недавно. Но вот Софья Алексеевна обратила внимание на такую молекулу, на довольно традиционную молекулу, нашего старого друга, старого знакомого – молекулу HLA-DR, которая известна ещё, начиная с эпохи до появления моноклональных антител. И если в отношении HLA-DR на других клетках известно

довольно много – зачем она нужна, как она функционирует, – то в отношении NK-лимфоцитов таких сведений или нет, или они очень скудны.

И вот Софья Алексеевна, собственно, посвятила свою работу изучению этого вопроса. Ею были изучены очень довольно подробно различные субпопуляции NK-лимфоцитов; были подобраны условия стимуляции NK-лимфоцитов *ex vivo*; были также определены те факторы, которые играют роль в экспансии NK-лимфоцитов; были определены некоторые сигнальные пути, участвующие в активации NK-лимфоцитов. Ну и наконец, на завершающей стадии, Софья Алексеевна использовала вот те подходы, которые она разработала, для изучения NK-лимфоцитов при туберкулёзной инфекции.

Таким образом, работа выглядит очень логичной, последовательной и в достаточной степени завершённой. И вот в доказательство этого можно привести то, что по теме диссертации опубликована целая серия работ, которые вышли в рейтинговых зарубежных журналах. И результаты работы были доложены на нескольких международных форумах. Таким образом, представлена очень добротная и очень хорошая диссертация. Но моя роль, как оппонента, она, конечно, состоит в том, чтобы найти и отметить, сделать некоторые замечания. И я сейчас вот перейду к тем замечаниям, которые я сделал в своём отзыве.

Софья Алексеевна очень подробно изучала NK-лимфоциты. Она делала это с помощью многоцветной иммунофлуоресценции. И понятно её желание представить фенотип исследованных субпопуляций как можно более подробно. И это привело к тому, что вот в тексте диссертации встречаются такие предложения, как я вот зачту одно: «NK-клетки CD56^{bright}HLA-DR⁺ меньше отличались от клеток CD56^{bright} HLA-DR⁻, чем клетки CD56^{dim}CD57+NKG2C+HLA-DR⁺ от клеток CD56^{dim}CD57+NKG2C-HLA-DR⁻». Я что хочу сказать. Конечно, для чтения это очень трудно. И самое главное, это трудно для понимания того, что говорится. Поэтому я в своём отзыве предложил так, что в одном месте где-то описать эти клетки: как-то их назвать («дифференцированные, недифференцированные», «зрелые, незрелые»; там скажем, «дубль позитивные, дубль негативные»), как это делают при изучении других лимфоцитов. И тогда восприятие было бы намного более простое этого текста.

Следующее замечание такое. Во-первых, так: я уже сказал, что вся работа, она выполнена на довольно большой выборке и нормальных добровольцев, и пациентов. Но, тем не менее, я считаю, что в каждом рисунке – видно, что в каждом рисунке таких точек довольно много, – но я считаю, что в каждом рисунке это нужно отдельно отмечать: сколько всё-таки было, какое количество, здоровых добровольцев, какое количество пациентов было.

Следующее. Ну, на мой взгляд, наиболее интересные данные были получены методом РНК-секвенирования. И вот в подписи к рисунку 9 указано, что анализ был проведён на клетках

от 2-х доноров в 2-х повторностях. Но у меня возникает вопрос: что это были за повторности? Это были просто технические реплики? Или это были биологические повторности? Это тоже надо было указать. А вот в рисунке 10 и это даже отсутствует.

Софьей Алексеевной было собрано очень большое количество данных. И когда есть такой очень большой массив данных, то, как правило, исследователи прибегают к так называемому анализу главных компонент, который позволяет вычлениить наиболее что-то значимое. И Софья Алексеевна провела такой анализ главных компонент. Но она приводит в своей диссертации анализ главных компонент 3 и 4. А, как говорится, а где же главные компоненты 1 и 2? Почему они не приведены. Я думаю, что это есть некое упущение.

Но, тем не менее, высказанные замечания не затрагивают полученных результатов и сущности сделанных выводов, а также не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой диссертации.

Я позволю себе перейти к заключению и констатировать, что диссертационная работа Куст Софьи Алексеевны соответствует критериям, установленным Положением о присуждении учёных степеней, утверждённым Постановлением Правительства РФ, а сам диссертант несомненно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология. Спасибо за внимание.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо, Александр Васильевич. Давайте послушаем диссертанта, как он ответит на ваши замечания.

Куст С.А. (соискатель):

Спасибо за замечания, Александр Васильевич. Конечно, спасибо за такой подробный анализ вообще работы. Касательно замечания по длинным названиям субпопуляций. Да, действительно, есть такой огрех. И, действительно, было бы проще как-то их назвать. И я, на самом деле, воспользовалась вашей подсказкой уже в докладе и назвала их так «ранними», «зрелыми». И, действительно, это для понимания, я думаю, зала было проще.

Касательно вопроса по... сейчас... количеству доноров, указанных в рисунках. Да, действительно, надо было быть внимательнее, – указывать во всех рисунках. В некоторых это было пропущено. Даже, наверно, во многих. Хотя в статьях, действительно, мы старались везде всё указывать. А вот почему-то к тексту диссертации я менее аккуратно подошла. Это я на будущее учту.

Что касается РНК-секвенирования. Там, действительно, в анализе главных компонент были показаны компоненты 3 и 4, поскольку по компонентам 1 и 2 данные распределились...

точнее, образцы распределились преимущественно по каким-то техническим различиям, связанным с тем, что они были взяты в разные дни – пробоподготовка там, возможно, велась разными руками. И поэтому смысловой нагрузки этот график не имел, и я его поэтому решила не вставлять. А уже по компонентам 3, 4 были видны какие-то распределения, связанные именно с экспрессией HLA-DR.

Касательно вопросов по рисунку. Действительно, тоже там, в рисунках к РНК-секвенированию, не указала. Под повторностями подразумевались технические реплики – это разные моменты сортировки, то есть 2 раза мы сортировали с одного донора. И в рисунке 10 рассматривались данные также по 2 донорам с 2 техническими репликами. Вроде бы на всё ответила?

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо.

Филатов А.В. (официальный оппонент):

Я могу подтвердить, Софья учла замечания, и в докладе уже что-то поправила.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо. В принципе, если у вас есть ещё какие-то несогласия с тем, что мы слышали, у нас ещё будут общая дискуссия и будет возможность, если нужно, там добавить к тому, что сейчас сказали. Спасибо! Давайте заслушаем второго официального оппонента: Алексей Юрьевич Лупатов. Это у нас Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича.

Лупатов А.Ю. (официальный оппонент):

(Излагает отзыв. Отзыв положительный).

Здравствуйте, уважаемые коллеги. Я, в отличие от Александра Васильевича, Софью Алексеевну первый раз сегодня встретил. Поэтому мой взгляд, я не отягощён знаниями о её достоинствах. Вот, поэтому я свежий взгляд сегодня представлю на диссертацию.

Ну прежде всего, я должен сказать, что объект исследования, выбранный диссертантом, конечно, уже очень хорошо изучен. Это связано, как уже говорил Александр Васильевич, с большой ролью этих клеток. Это прежде всего. НК-клетки – это клетки, которые сдерживают развитие инфекции до того, как успеет выработаться адекватная, сильная адаптивная иммунологическая реакция. Кроме того, эти клетки очень интересны тем, что, используя эти клетки, на основе этих клеток, можно создать клеточный препарат – такой идеальный клеточный препарат для адаптивной иммунотерапии. Поскольку они, будучи

эффекторами, при этом ещё не рестриктированы по молекулам главного комплекса гистосовместимости, можно сделать такой препарат, который есть время сертифицировать, много поработать, заморозить; и потом лечить всех, а не подбирать отдельно под каждого пациента (под его гаплотип подбирать какие-то клетки уже конкретно).

Естественно, такие клетки все изучают довольно много, и они уже хорошо изучены. Но нужно отдать должное диссертанту, и, конечно, это заслуга научного руководителя тоже, что им удалось найти такую нишу, которая, практически, не исследована. То есть они объединили, с одной стороны, исследования довольно хорошо исследованных клеток, и исследования молекул главного комплекса гистосовместимости 2-го класса в их контексте. Должен сказать, что все, кто знаком с основами клеточной иммунологии, естественно, знают, что молекулы 2-го класса гистосовместимости главного комплекса HLA-DR, они служат, в основном для того, чтобы... они, в основном, представлены на антигенпрезентирующих клетках и служат для того, чтобы показать в понятной для Т-лимфоцитов форме, показать какие антигены окружают клетку. То есть клетки фагоцитируют что-то и представляют антигены в контексте главного комплекса гистосовместимости 2-го класса.

Вот, но, как я уже сказал, эти молекулы характерны для антигенпрезентирующих клеток. Но НК-клетки не относят к антигенпрезентирующим клеткам. По крайней мере, считается, что они такими не являются. Несмотря на то, что Софья Алексеевна как бы предприняла попытку доказать обратное. Вот, ну и, естественно, именно роль молекул главного комплекса гистосовместимости 2-го класса в контексте НК-клеток, она практически не изучена. Что они там делают?... Да, они появляются после активации этих клеток. Но на других, допустим, на мезенхимных – вообще неиммунные вроде как клетки – мезенхимных стволовых клетках после активации там интерфероном гамма они тоже появляются. Их функция, по сути, неясна совершенно – зачем они и что они там делают.

Поэтому, вот, как мне кажется, очень важно то, что им всё-таки на довольно исследованной области – диссертанту и научному руководителю – удалось найти такую область, которая действительно очень интересна и, практически, не исследована. Таким образом, с актуальностью, и впоследствии, с уже полученными результатами, со значимостью научной полученных результатов, как бы проблемы в диссертации нету никакой.

Теперь, значит, что я увидел, когда прочёл сам научный труд. Ну, во-первых, значит, скажу такие формальные слова, что построена по классической схеме. Довольно объёмная диссертация – это 174 страницы; там 28 рисунков, 6 таблиц, 199 ссылок. Значит, обзор довольно объёмный – 40 страниц – состоит из 3 частей. В общем, всё логично построено.

В 1-й части описываются то... описываются NK-клетки вообще, как таковые: их молекулярные особенности, функциональные и прочие прочие. В следующей части описывается то, что всё-таки уже известно про HLA-DR-экспрессирующие NK-клетки. Вот, хотя информации на эту тему довольно мало, – не в диссертации, а вообще в науке. Ну и 3-я часть посвящена роли NK-клеток при туберкулёзе, поскольку это как бы такое вот... часть диссертационной работы, которая имеет практическую направленность. Никаких вопросов и претензий к этой части работы у меня не возникло.

Значит, следующая часть – «материалы и методы». Материалы и методы тоже довольно объёмные. Там описывается более 20 методик. Они включают довольно-таки высокотехнологичные инструментальные методы, как сортировка и проточная цитофлуориметрия, иммуномагнитное выделение, в том числе ПЦР с обратной транскрипцией – количественный ПЦР, а также секвенирование РНК с помощью NGS. Вот, это только самые технологичные. А всего, как я сказал, около 20 методов. Все эти методы, как ни странно (потому что их всё-таки 20), они потом используются уже в экспериментальной части. Вот, поэтому, как вы догадываетесь, экспериментальная часть тоже довольно-таки большая. Только чтобы все эти методы применить, надо много очень чего сделать. Так, и что ещё важно – это то, что методы довольно подробно описаны и, как и положено, их можно, на основании их описания, воспроизвести другим исследователями. Результаты и обсуждение. «Результаты и обсуждение» – это 57 страниц. То есть часто в диссертациях бывает: всё-таки самый большой, обычно, пишут обзор литературы, стараются побольше написать. А здесь нет. Но, должен сказать, что результаты и обсуждение представлены в виде одной главы, отдельной. Вот, на мой вкус, поскольку там очень много всякой экспериментальной работы, я бы всё-таки разделил их, на самом деле. Но это как бы не замечание, это пожелание моё субъективное. На мой вкус, нужно было бы всё-таки разделить. Потому что чувствуется иногда, когда все эти 20 методов используются и на каждый из этих 20 методов куча экспериментов; и туда же еще, там же ещё оказывается обсуждение каких-то работ других авторов – но это ещё можно стерпеть. Но когда туда ещё и гипотезы какие-то помещаются, то это вообще получается немножко сложновато. Я бы разделил. Ну это – как кому; это как бы не замечание.

По поводу заключения. В заключении обобщаются результаты, делаются выводы. Выводы соответствуют задачам – здесь всё тоже нормально. Теперь, какое у меня общее впечатление сложилось об этой работе, общее впечатление. Ну, у меня... Работа, во-первых. Очень большая. Очень много выполнено кропотливой экспериментальной работы. Но больше всего меня удивило не это.

Наверно, все сотрудники вот научные среднего и старшего возраста знают, что молодые научные сотрудники не умеют писать научные тексты. Все, наверняка, с этим сталкиваются. Меня, по крайней мере, это очень мучает. Потому что приходится выполнять огромную работу, и часто какую-нибудь статью или заявку на грант или что гораздо проще написать с нуля, чем переделывать, копаться в том, что приносят. Это просто... Я даже пытался как-то разобраться с этой проблемой – в чём же её корни? И вместе с этими молодыми сотрудниками мы выяснили, что проблема заключается в том, что они просто никакие тексты никогда не писали. Поколение интернета даже какое-то сочинение про Муму писали... просто скачивали из интернета в школе. И в этом, видимо, проблема.

Вот... как я вот... читая диссертацию, которую мне предложили для оппонирования, я в первый раз за несколько лет, читая труд молодого научного сотрудника, мне не хотелось взять ручку и всё перечёркивать, править и прочее, прочее. Ну вот за исключением таких вот некоторых моментов, о которых уже предыдущий оппонент указал – там были такие какие-то очень... Но в тексте есть две вещи, очень важные. Это логика есть изложения и есть хороший стиль написания. Это очень-очень редкое, это очень важно для научного сотрудника, как мне кажется. Тем более, кандидата наук, потому что большинство уже кандидатов наук молодых не могут написать никакого научного текста. А это входит в их прямые обязанности. Вот здесь этой проблемы нет, и это очень редко и очень ценно.

Но поскольку меня пригласили всё-таки не для того, чтобы хвалить, а чтобы оппонировать, поэтому я теперь укажу, какие замечания я там всё-таки хочу сделать и какие проблемы я обнаружил. Прежде всего – я не буду оригинальным – на странице 91 я заметил то же самое, что уже два раза упоминалось – это магическое число 5. Откуда взялись эти 5 % я теперь уже знаю, потому что на этот вопрос ответили; но в диссертации про то, откуда они взялись и как пришли к этому магическому числу – почему именно 5, а не 6, не 7 и не 10 – нету ни слова. Ну, ответ на этот вопрос я не жду, потому что на него уже хорошо, довольно подробно, ответили.

Значит, второе замечание. На странице 106... на странице 106 автор довольно подробно описывает, какие изменения происходят с НК-клетками, когда их активируют: Это морфологические изменения: там форма у них меняется, гранулярность меняется. Ну там очень хочется увидеть ну хоть один портрет объекта исследования. Хотя бы одну фотографию туда вставить бы очень хотелось. Я понимаю, что диссертация защищается по специальности «Молекулярная биология» и прочее, и, и может быть, в лаборатории не поставлена микроскопия – надо кого-то просить. Но вот именно, хотя бы в этой части, где пишется о гранулярности, об изменениях клеток, – ну нужна фотография, ну, хотя бы 2 – 3.

Вся диссертация представлена исключительно графиками и таблицами: графики и таблицы. Ну порауйте хотя бы читателя немножко каким-нибудь снимочком.

Так, третье замечание. Значит, на рисунке 13 при оценке динамики экспрессии HLA-DR, который на стимулированных НК-клетках (там различные факторы даются и НК-клетки стимулируются), при помощи цитометрии определяется экспрессия HLA-DR. При этом понятно, что эти факторы могут как-то влиять на выживаемость клеток, вот. Мне не понятно, почему здесь не использован какой-нибудь в цитометрии витальный краситель. Тем более, что в других экспериментах, если я не ошибаюсь, там DCV-окрашивание, по моему, использовалось. Или я что-то ошибаюсь, но, короче, какой-то витальный краситель где-то там был явно, потому что я смотрел, что в других местах он использовался.

Четвёртое, чего я тут отловил, – это рисунок 28. Это, значит, довольно важный эксперимент, где Софья Алексеевна хочет показать, что всё-таки НК-клетки способны, подобно дендритным клеткам... Ну не подобно дендритным клеткам – в значительно более слабой манере, но всё-таки презентировать антиген. То есть что они являются, пусть и не профессиональными, но антигенпрезентирующими клетками.

Вот. Во-первых, на рисунке 28 – так, а то забуду потом про это сказать – не подписаны оси. Поэтому (там, кажется, оценивается экспрессия, если не ошибаюсь, интерферона гамма и TNF, правильно?), вот, и там непонятно – поскольку это плот, непонятно, где там интерферон гамма, где TNF. В общем, запутаться можно. Ну это, в общем-то, просто, понятно, проглядели – небольшое замечание. Но в эксперименте в самом используются... в качестве антигена используется лизат микобактерий. И при этом в качестве позитивного такого референсного контроля используются дендритные клетки, которые должны всё хорошо презентировать. И рядом, в параллели, пускаются, соответственно, НК-клетки. И в итоге смотрится то, как эти клетки способны активировать Т-клеточный ответ – Т-клеточные реакции смотрятся на это дело. При этом, как я понял из текста, Т-клетки используются аллогенные, то есть в этом случае нельзя разделить как бы ответ на аллоантиген и на непосредственно на микобактерии. Сейчас вот я слушал доклад и мне показалось, что в докладе... я немножко прослушал, правда, но мне показалось, что клетки всё-таки были аутологичными. То ли я одновременно оппонировал работу и мне нужно было в то же время сдавать статью срочно – дедлайн был – и я что-то напутал. Либо... ну то есть в таком эксперименте трудно отличить ответ на аллоантиген, если я правильно понял, и на антиген непосредственно микобактерии. Вот. Может быть, я ошибся, не знаю. Извиняюсь, если это так.

Ну и третье замечание – оно такое общего плана: по поводу заключения. В заключении всё хорошо, но такое ощущение, что как бы Софье Алексеевне не хватило сил уже его дописать.

То есть там всё заканчивается выводами. Выводы – всё с ними нормально. Но нужно было бы всё-таки: работа имеет какие-то практические перспективы. Вот нужно было туда что-нибудь дописать такое, как она планирует: как следует использовать полученные ею научные результаты для дальнейших исследований, прежде всего, прикладных исследований. То есть мне кажется, это там бы было очень хорошо, очень к месту.

Вот. Ну, в общем, это мои... Я просто как бы исполнил свои обязанности, нашёл, что смог, какие смог, замечания. А в общем работа, как мне кажется, очень хорошая. Я не знаю, как для ИБХ, – возможно, тут уровень гораздо более высокий, – но вот из тех работ, которые мне в последние годы приходилось читать, это явный... я бы дал ей вот этот, как у нас сейчас принято, Q1, – этой работе бы поставил. Вот среди тех работ, которые я за последние годы... Естественно, работа очень хорошая. Все формальности в ней присутствуют. И несомненно Софья Алексеевна заслуживает, по моему мнению, присвоения ей искомой степени кандидата наук, биологических.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо, Алексей Юрьевич. Мы обязаны выслушать ответы диссертанта. Слушаем.

Куст С.А. (соискатель):

Спасибо большое Алексею Юрьевичу за, опять же, очень глубокий анализ работы. И в ответ на замечание... замечание про отсутствие красивых картинок и фотографий. Да, действительно, наверно, это украсило бы работу. И мы подумаем над этим на будущее, что, действительно, это можно внедрить в наши последующие публикации, например.

Про 5% я в целом, да, уже ответила. И, действительно, нужно было как-то это более подробно объяснить в тексте самой диссертации. Ну, мне, как человеку изнутри, кажется, что всё очевидно. Ну вот, мы уже посмотрели, мы же поняли. А в диссертации надо было это описать подробнее.

По поводу витального красителя. Действительно, мы в части экспериментов его использовали, в первую очередь, в тех, где потенциально могла быть гибель клеток – где там использовались блокаторы сигнальных путей, например, или соникат микобактерий. В некоторых экспериментах мы его опускали. И связано это, по большей части, с ограничениями проточной цитометрии. Поскольку у него есть несколько каналов, и как бы каналы не бесконечны – туда хочется побольше запихнуть клеточных маркёров – естественно, чем-то приходится жертвовать.

Но если сравнивать вот с теми данными, где мы использовали витальный краситель, то даже активированные НК-клетки (в отсутствие витального красителя мы гейтируем НК-клетки

– у меня тут, по-моему, даже была картинка, да – мы гейтируем по FS-SS. И NK-клетки, они отличаются тем, что они достаточно хорошо в общем гейтируются по этим параметрам. И даже, если мы добавляем витальный краситель – это из тех экспериментов, где он был, – даже вот после такого простого гейтирования (это вот активированные цитокинами NK-клетки) процент, так скажем, умерших клеток, он, обычно, вот 1, 2, ну 3 %. И на собственно финальный результат это бы особо не повлияло. Поэтому мы позволили себе в некоторых экспериментах опустить витальный краситель, чтобы добавить какие-то дополнительные клеточные маркёры, которые нам хотелось посмотреть. На фоне там вот 85% какие-то 1-2% не сильно влияют на результат.

Что касается рисунка 28 и, собственно, экспериментов по культивированию T-клеток, NK-клеток, и T-клеток и дендритных клеток. Здесь закралась совершенно чудовищная опечатка в диссертации, которая сильно влияет на смысл. Мы использовали, естественно, аутологические клетки. И T-клетки, и дендритные, и NK-клетки – все были получены от одного и того же донора. И в эксперименте каждый раз участвовали клетки от одного и того же донора. И вот за счёт этой опечатки возникло некое недопонимание. Но в тексте доклада, во время презентации доклада я уже сказала как есть. А вот в тексте диссертации уже не исправишь, к сожалению.

И было там ещё замечание по поводу того, что T-клетки и сами, в принципе, могли бы реагировать на соникат через TLR. Мы на ранних этапах, когда устанавливали только методику, добавляли соникат просто к чистым T-клеткам, без NK-клеток, без дендритных клеток, и не видели никакой заметной активации. И потом позволили себе тоже исключить эти контроли из эксперимента, поскольку, опять же, на этот раз уже ограничение по количеству клеток, которое можно выделить из крови. Не всегда оно достаточное, чтобы хватило на все образцы – приходится, опять же, что-то где-то, может быть, жертвовать.

Вроде бы всё? Или на что-то не ответила?

Иванов В.Т. (председатель):

Скорее всего, да.

Куст С.А. (соискатель):

А, про заключение, да. По поводу того, что можно было что-то ещё такое теоретическое порассуждать насчёт использования HLA-DR+ NK-клеток в терапии. Действительно, можно было такой добавить абзац или раздел. И, вообще, в целом, он даже есть в одной из моих публикаций обзорных, которые я представляла на слайде. Но почему-то так

сложилось, что в диссертацию он не перекочевал. Ну я могу в паре слов сейчас высказать своё мнение по этому поводу.

Как я показала, HLA-DR-позитивные NK-клетки достаточно хорошо функционально активны. Соответственно, у них есть потенциал для иммунотерапии. И их достаточно просто получать в необходимых количествах, поскольку многие стимулирующие факторы приводят к экспрессии HLA-DR. И, учитывая мою последнюю серию экспериментов касательно антигенпрезентации, мне кажется, было бы очень интересно попробовать совместить их киллерную и антигенпрезентирующую активность. И тут главная проблема, на самом деле, – это нагрузить антигеном для более эффективной презентации. У меня в работе использовались как бы просто разрушенные микобактерии. И, в целом, предполагалось, что NK-клетки их распознают, эти кусочки, какие-то интернализуют, переработают и, как что-то, представят на поверхность. Ну и в целом, это возможно, поскольку на NK-клетках есть соответствующие рецепторы для распознавания микобактерий туберкулёза.

Но в предыдущих публикациях было показано, что с цельными антигенами (а у меня, ну практически, цельный антиген там; раздробленные бактерии, они тоже как бы не сильно раздроблены-то, на самом деле) с цельными антигенами NK-клетки разбираются сильно хуже, чем если их нагружать готовыми короткими пептидами. В таком случае это не требует даже какой-то специфической интернализации, переработки. Пептиды могут просто заменяться прямо на поверхности МНС II. И такие работы есть. И, действительно, когда NK-клетки нагружали просто короткими пептидами (а если мы говорим о раковой терапии, то там как раз один из потенциалов – это нагружение клеток пептидами, выделенными из раковых клеток, из раковых антигенов), если нагружать NK-клетки пептидами, то их антигенпрезентирующая активность становится лучше. И, в целом, получается, они приобретают действительно больше нагруженных соответствующим антигеном молекул МНС II прямо на своей поверхности. В общем, мне кажется, что было бы действительно интересно эти клетки рассмотреть в терапии.

Теперь уже, наверно, точно всё.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо. Мы прошли по запланированной части данной защиты. А дальше идёт общая дискуссия. Всё то, что было недоговорено, может быть добавлено любым из присутствующих здесь участником нашего заседания, кроме научного руководителя. По моему, так. Сергей Михайлович, кажется, есть что сказать.

Деев С.М. (член совета):

Дорогие коллеги. У нас сегодня хороший день, хорошая защита, очень интересная. Значит, то, что я хотел сказать – очень как-то интересно получилось – это сказала только что диссертантка в своём ответе на предложение одного из оппонентов расширить заключение. Значит, сейчас в терапии – ключевое слово «терапия» – сейчас одним из магистральных направлений, очень перспективным направлением для разных видов болезней (ну, я буду сейчас... скажу два слова о раке) – является это использование клеток иммунной системы, тех или иных цитотоксических лимфоцитов. Колоссальные успехи есть с использованием CAR-T-клеток, то есть CAR – это Chimeric Antigen Receptor, химерные антигенные рецепторы на поверхности цитотоксических Т-лимфоцитов. Есть сотни работ. Есть очень большие успехи в терапии рака. Правда, только диссеминированных видов опухолей. Солидные не так хорошо поддаются. И здорово, что в нашем институте прекрасно ведутся эти работы в лаборатории Александра Габировича Габирова.

С NK-клетками – это другая популяция цитотоксических лимфоцитов – дело обстоит намного сложнее. В частности, из-за того, что они гораздо менее долгоживущие. Вот. И тут нужны фундаментальные работы по NK-клеткам, по их изучению. И очень здорово, что в нашем институте есть такая замечательная лаборатория, где это ведётся на очень профессиональном уровне, что мы и услышали сегодня в защите.

Защита, вообще, по-моему, образцовая. Прекрасный доклад мы услышали; прекрасное владение методологией, прекрасные ответы на вопросы. На мой взгляд, ещё очень здорово руководство лаборатории подобрало оппонентов. Мы услышали двух очень высоких профессионалов, которые действительно разбираются в деталях работы. Мы не все, члены диссертационного совета, разбираемся в деталях, конкретных, методических. А тут вот очень здорово, когда подбираются такого уровня профессиональные оппоненты, которые нам дадут действительно понять, насколько действительно хорошо сделана работа. Мы услышали: работа сделана отлично. Ответы на вопросы были отличными. И я думаю, что, может быть, что вот та трудная область использования NK-клеток для иммунной терапии направленной, то, что делается с изменением рецептора на поверхности NK-клеток, может быть, благодаря этой работе, тоже будет, наверно, продвинута, может быть, даже и в нашем институте.

По-моему, мы сегодня услышали отличный доклад. И я однозначно считаю, что Софья Алексеевна – это сложившийся учёный, безусловно заслуживающий присуждения степени кандидата наук. Спасибо.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо. Кто-нибудь ещё хотел бы высказаться? Я не вижу. Ситуация достаточно понятная и ясная. Поэтому общая дискуссия, по-видимому, на этом заканчивается. Но я должен дать слово диссертанту уже провести... ну заключительное слово. Прошу.

Куст С.А. (соискатель):

Я хочу сказать всем большое спасибо: зрителям – за внимание, оппонентам, ведущей организации – за полноценный, полный анализ моей работы и за какие-то замечания, касающиеся научных вопросов; и за какие-то коррективы технического характера, часть из которых я даже сумела употребить в моём докладе, что сделало его, конечно, ещё лучше. Также, естественно, я хочу поблагодарить своего научного руководителя Елену Ивановну, которая, к сожалению, сегодня не смогла присоединиться к нашему заседанию. Но без неё, как бы банально это не звучало, я бы не смогла сделать работу настолько цельной, поскольку она помогала мне, во-первых, определиться с полем исследования, когда я только пришла в лабораторию. Во-вторых, правильно выстроить последовательность исследования. Дальше уже там какие-то конкретные эксперименты я планировала, разрабатывала сама. Но вот эту вот канву, без которой работа не получилась бы такой цельной и законченной, я, конечно, получила от неё.

Ну и хотелось бы сказать благодарности вообще всему коллективу лаборатории клеточных взаимодействий нашего института. И руководителю лаборатории Александру Михайловичу, и моим коллегам: Марии Стрельцовой, Леониду Каневскому, Полине Кобызевой, Марии Гречихиной, Геннадию Владимировичу Луценко за разностороннюю помощь в выполнении данной работы, за обучение различным методикам, когда я только-только начинала свой путь, за помощь в экспериментальной работе, за критическую оценку всех моих публикаций и диссертации. Также хотела бы сказать слова благодарности группе структурной организации Т-клеточного иммунитета в лице Ольги Британовой, Екатерины Мерзляк, и Павлу, который помог мне с обработкой биоинформатических данных и, вообще, с подготовкой образцов РНК-секвенирования – они нам помогали. Ирине Владимировне Лядовой и Александру Пантелееву из Института туберкулёза хотела выразить благодарность за помощь в получении образцов крови пациентов с туберкулёзом, помощь в выделении периферических мононуклеаров и дальнейшую помощь в анализе экспрессии различных маркёров. И также доктору Дину Ли из MD Anderson Cancer института, который любезно предоставил нам линию клеток K562 с мембраносвязанным интерлейкином-21, который мы активно использовали в наших экспериментах. Спасибо всем большое.

Иванов В.Т. (председатель):

Спасибо. У нас есть все основания перейти к процессу голосования. Мы должны избрать счётную комиссию. У меня тут даже есть согласованное предложение. Я его озвучу, без имён, отчеств: Ажикина, Лебедев, Олейников. Если есть какие-то иные предложения, прошу их давать. Какие-то отводы, самоотводы, изменения? Если таковых нет, то давайте открытым голосованием проголосуем за данный состав счётной комиссии. Кто за? Есть ли какие-то возражения? Как правило, не бывает. Нету. Счётная комиссия избрана.

Следующий этап у нас – тайное голосование. Значит, я прошу всех членов учёного совета осуществить свою обязанность. Объявляю перерыв, очень короткий. Прошу сделать своё дело и не расходиться, поскольку нам ещё нужно принять к защите две работы. Это не очень такая длительная процедура. Но, тем не менее, мы обязаны заслушать два сообщения. Прошу голосовать.

(Идёт процесс голосования.)

Иванов В.Т. (председатель):

Сейчас у нас будет возможность заслушать итоги голосования. Но перед тем, как это сделать – а то все разбегутся сразу, как только мы объявим, – у меня вопрос такой. У всех на руках есть проект заключения по заслушанным диссертациям. Полагается голосовать за эти проекты после того, как уже объявлено об итогах голосования. Я хочу предварительно мнение присутствующих: есть какие-то коррективы к тем проектам, которые были? Обычно Николай Владимирович Бовин комментирует и исправляет. Сегодня его, по-моему, нет в явном виде. Да, его нет. Ну и, соответственно, у нас более миролюбивое настроение по отношению к предлагаемым нам вариантам заключений. Предварительно, нет никаких замечаний? Тогда мы готовы к тому, чтобы за них тоже проголосовать. Итоги голосования по поводу заслушанных диссертаций.

Олейников В.А. (ученый секретарь):

Так, итоги голосования. По поводу диссертации Куст Софьи Алексеевны. Значит, на заседании присутствовало членов диссертационного совета – 23, оказалось в урне бюллетеней – 23, «за» – 23, «против», недействительных – нет.

Иванов В.Т. (председатель):

Кто за то, чтобы утвердить итоги голосования, кто за? Есть ли против? Подсчёт был правильный, спасибо. Давайте сразу голосовать за проекты заключений, которые были нам представлены до начала работы. Кто за то, чтобы утвердить проекты заключений? Кто за? Кто против? *(Проект заключения совета принимается единогласно.)* Мы завершили повестку дня. Спасибо всем. Мы утвердили все предложения.

Председатель
Диссертационного совета

д.х.н., академик РАН Иванов В.Т.

Учёный секретарь
Диссертационного совета



д.ф.-м.н., Олейников В.А.