

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук**

СТЕНОГРАММА

**Заседания диссертационного совета 24.1.037.01 при ИБХ РАН
22 февраля 2023 года**

**Защита диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук**

Израельсона Марка Александровича

**По теме: «Организация адаптивного иммунитета долгоживущего
грызуна *Spalax galili*»**

Специальность 1.5.3 – «Молекулярная Биология»

Москва-2023

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 22 февраля 2023 года

Председатель
диссертационного совета д.х.н., академик РАН Мирошников А.И.

Учёный секретарь
диссертационного совета д.ф.-м.н. Олейников В.А.

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 8.

- | | | | |
|-----|------------------------|----------------------------------|---------|
| 1. | Академик РАН, д.х.н. | Мирошников Анатолий Иванович | (1.5.6) |
| 2. | Д.физ.-мат.н. | Олейников Владимир Александрович | (1.5.6) |
| 3. | Д.б.н. | Ажикина Татьяна Леодоровна | (1.5.3) |
| 4. | Д.х.н. | Безуглов Владимир Виленович | (1.4.9) |
| 5. | Д.х.н. | Белогуров Алексей Анатольевич | (1.5.3) |
| 6. | Д.х.н. | Бовин Николай Владимирович | (1.5.6) |
| 7. | Академик РАН, д.х.н. | Габибов Александр Габибович | (1.5.6) |
| 8. | Д.х.н. | Генералова Алла Николаевна | (1.5.6) |
| 9. | Академик РАН, д.б.н. | Деев Сергей Михайлович | (1.5.3) |
| 10. | Д.б.н. | Долгих Дмитрий Александрович | (1.5.3) |
| 11. | Академик РАН, д.х.н. | Донцова Ольга Анатольевна | (1.5.3) |
| 12. | Член-корр. РАН, д.б.н. | Завриев Сергей Кириакович | (1.5.6) |
| 13. | Д.б.н. | Лебедев Юрий Борисович | (1.5.3) |
| 14. | Академик РАН, д.б.н. | Лукьянов Сергей Анатольевич | (1.5.3) |
| 15. | Д.х.н. | Овчинникова Татьяна Владимировна | (1.4.9) |
| 16. | Д.б.н. | Сапожников Александр Михайлович | (1.5.3) |
| 17. | Член-корр. РАН, д.б.н. | Тоневицкий Александр Григорьевич | (1.5.6) |
| 18. | Д.х.н. | Уткин Юрий Николаевич | (1.4.9) |
| 19. | Член-корр. РАН, д.х.н. | Цетлин Виктор Ионович | (1.4.9) |
| 20. | Д.х.н. | Шахпаронов Михаил Иванович | (1.4.9) |
| 21. | Д.х.н. | Ямпольский Илья Викторович | (1.4.9) |

Мирошников А.И., председатель:

Объявляем защиту. Организация адаптивного иммунитета долгоживущего грызуна с неприличным названием *Spalax galili*. Марк Александрович Израельсон, научный руководитель Британова Ольга Владимировна и научный консультант Чудаков Дмитрий Михайлович. Марк Александрович, пожалуйста!

Мирошников А.И., председатель:

Слово пока ученому секретарю.

Олейников В.А., ученый секретарь:

Материалы личного дела. Значит, Марк Александрович Израельсон, Российской Федерации, пятнадцатый год окончил магистратуру МГУ, с 2013 по 2022 сотрудник отдела геномики адаптивного иммунитета нашего института. Кандидатский экзамен, специальность молекулярная биология – отлично. Выполнена работа в группе структурной организации Т-клеточного иммунитета нашего институт, научный руководитель, как уже было сказано, Британова Ольга Владимировна и научный консультант Дмитрий Михайлович Чудаков, по теме диссертация опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных журналах, объявления о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК - 13 декабря, то есть в соответствии с соответствующими положениями и все необходимые документы в деле есть.

Мирошников А.И., председатель:

Пожалуйста.

Израельсон М.А., соискатель:

(излагает основные положения диссертационной работы)

Мирошников А.И., председатель:

Спасибо, пожалуйста, вопросы. Да Николай Владимирович!

Бовин Н.В.:

Два вопроса позволите?

Мирошников А.И., председатель:

Да хоть три.

Бовин Н.В.:

Первый более частный вопрос по концовке вашего доклада. Объясните пожалуйста, что такое расчётная силы связывания? Сила связывания с чем?

Израельсон М.А., соискатель:

Ну это сила связывания с антигеном, то есть, по сути она рассчитывается, что и у каждой аминокислоты есть определённые значения. И вот мы смотрели... То есть это теоретическая сила связывания с антигеном у этого рецептора.

Бовин Н.В.:

С любым? С абстрактным антигенным?

Израельсон М.А., соискатель:

Как бы да, с абстрактным антигеном.

Бовин Н.В.:

То есть по вашей практике это имеет какой-то действительно смысл, то есть подтверждено экспериментальное или остаётся чистой теории?

Израельсон М.А., соискатель:

Ну, например, предположим эта сила связанный рассчитанная для Т-регуляторных клеток. Она явно показывает, да, что, например, они обладают большей силой связывания, по этой метрике, ожидаемо и доказано. Поэтому да, она с одной стороны, расчётная, с другой стороны, мы видим, что ей есть подтверждение.

Бовин Н.В.:

Можно верить.

Израельсон М.А., соискатель:

Да.

Бовин Н.В.:

И второй вопрос. Спасибо за первый, второй вопрос. Уходя к самым истокам. Какие у вас были глубокие основания рассматривать именно адаптивный иммунитет, для того, чтобы объяснить вот эти необычные свойства слепыша, Почему вы не рассматривали врождённый иммунитет?

Израельсон М.А., соискатель:

Ну, самый, конечно, простой будет ответ то, что мы из геномики адаптивного...

Бовин Н.В.:

(смеется) Я этот ответ не принимаю.

Израельсон М.А., соискатель:

Интересно посмотреть, как это с течением жизни именно меняется адаптивный эффект, который и должен меняться, то есть некие изменения адаптивного иммунитета известные, довольно яркие, и хотелось посмотреть вот как именно адаптивный иммунитет меняется. Опять-таки, есть предположение, что, во-первых, на него ещё можно как-то, наверное, более сильно влиять. Если переносить, потом когда-то в будущем исследования на человека, предположим, что-то такое. Ну это мы только что видели доклад перед нами. Всё, это основано больше на методах и механизмах адаптивного иммунитета. Вот, поэтому это представляло в этом плане большой интерес.

Бовин Н.В.:

А то, что вы обнаружили по В1 клеткам, это не наталкивает на...?

Израельсон М.А., соискатель:

Да, безусловно. Ну как бы понятно, что проблема старения, она скорее, ну, как и всё остальное, - комплексное, и то есть, действительно... Ну про В1 клетки тут надо сказать, что мы пока что это видим абсолютно косвенно. Да, то есть, мы не видим этому чётких

подтверждений. К сожалению, вот и антител нету, чтобы точно идентифицировать популяции, поэтому это скорее теоретические предположения, но в целом, конечно, да, естественно наталкивает, что безусловно, скорее всего, врождённый иммунитет там играет большую роль, как и наверняка, многие другие системы организма, играют безусловно не меньшую роль, потому что это, конечно, вряд ли он просто из-за адаптивного иммунитета....

Бовин Н.В.:

То есть это больше системная биология...

Израельсон М.А., соискатель:

Конечно, конечно!

Бовин Н.В.:

Спасибо.

Мирошников А.И., председатель:

Так пожалуйста, следующий вопрос. Да пожалуйста.

Белогуров А.А.:

У меня к вам вопрос такой вот по поводу рассеянности адаптивного иммунитета слепыша. То есть, если сформулировать конкретно, то вот, как вы думаете, что будет, если проиммунизировать его вот по классической схеме, ну дальше понимаете, к чему я веду?

То есть у него же всё-таки должны появиться какие-то мажорные клоны, которые достаточно быстро по сравнению там с другими млекопитающими должны схлопнуться и не оставить после себя никакой, как бы памяти.

Израельсон М.А., соискатель:

Спасибо за вопрос. Да, во-первых, была попытка не очень, наверное... Ну то есть, как бы был такой пристрелочный эксперимент, так сказать, я проиммунизировал их жёлтой лихорадкой и, надо сказать, что так вот сходу не нашёл там клонов. При этом надо понимать, что там доза, подбор дозы к этому животному такой вопрос... В целом да, то

есть, как бы идея примерно вот, как вы писали, предполагаю, что если это будет, то появляется пул каких-то клеток, которые потом действительно уходят и не детектируется дальше с возрастом. Да вот примерно идея, вот видимо, такая, но пока что мы этого не показали.

Белогуров А.А.:

Ну да, ну, то есть иммунизировать уже пробовали, но пока что...

Израельсон М.А., соискатель:

Да, то есть это был такой буквально пристрелочный эксперимент.

Белогуров А.А.:

То есть очень интересно, какая система подавления клонов.

Израельсон М.А., соискатель:

Да, каким образом они выводятся так активно из пула, да, безусловно представляет большой интерес.

Белогуров А.А.:

Спасибо.

Мирошников А.И., председатель:

Еще вопросы? Не вижу. Так, спасибо. Владимир Александрович?

Олейников В.А., ученый секретарь:

Так, там научный руководитель еще.

Мирошников А.И., председатель:

А, научный руководитель у нас еще.

Олейников В.А., ученый секретарь:

Британова, да.

Мирошников А.И., председатель:

Где научный руководитель то?

Британова О.В., научный руководитель:

Я вас не расслышала. Добрый день уважаемые коллеги. Уважаемые члены учёного совета. Марк Александрович пришёл в нашу лабораторию достаточно давно. Сначала он у нас делал курсовую работу, потом дипломную дальше это всё перетекло в данное исследования, и могу сказать, что Марк Александрович зарекомендовал себя, ну в первую очередь, как творческий человек с творческим подходом. С его подачи в нашей лаборатории, и при его активном участии, а развилось создание базы данных секвенирования, которых мы производим достаточно много, и именно Марк Александрович был инициатором того, чтобы это всё упорядочить и сделать доступным для всего отдела, что крайне важно в контексте обмена информации между подразделением.

Дальше по работе, да, я не могу так как бы его оценивать? Но Марк всегда был инициатором и генератором идей, что можно ещё сделать, как можно развить работу. Также важно отметить, что Марк очень нам помогает в обучении студентов, и без него мы вряд ли бы сделали такой курс доступный в том числе онлайн, что в период ковида было крайне важно. И здесь способность Марка Александровича вот это всё через себя пропустить, всех соединить, - она оказалась незаменима. Вот, поэтому мы надеемся, что в дальнейшем Марк Александровича останется с нами в контакте и будет активно нам помогать в процессе обучения студентов. Ну и дальше ещё посмотрим, как мы будем взаимодействовать.

Мирошников А.И., председатель:

А что, вы надеетесь, что он не уйдет что ли?

Британова О.В., научный руководитель:

Мы не можем его... Мы надеемся, что Марк себя найдет, разовьет как-то какие-то дальнейшие интересные проекты. Ну, и останется с нами на связи. И очень надеюсь, что работа будет поддержана.

Мирошников А.И., председатель:

Спасибо.

Олейников В.А., ученый секретарь:

Так, ну теперь по поводу различных заключений (*зачитывает положительное заключение организации, где выполнялась диссертация*). Во-первых, заключение от организации, то есть выполнена работа у нас - Институт биоорганической химии. Биографические данные были уже оглашены. Руководитель только что выступила. Значит, тема диссертационной работы утверждена в девятнадцатом году ещё и обсуждалась, соответственно, на заседании отдела. Принято следующее заключение по поводу актуальности. Ну тут нет сомнения, потому что рассматривается некий организм *Spalax galili*, грызун, который обитает под землёй, и тут подчёркивается, что вот такой замечательный грызун, у которого отсутствует спонтанное возникновение онкологических заболеваний и подавление их, уничтожение и не приживание, если искусственно это водится. Ну и понятно, что это очень большой интерес к этой работе. Значит, настоящая работа помогает пролить свет на механизмы, частично, отвечающие за долгожительство этого организма, этого животного. Научная новизна. Изучение иммунитета в немодельных объектов представляет особый интерес. В силу особенностей своего строения и/или среды обитания такие организмы могут задействовать ранее не описанные механизмы борьбы с инфекциями, раком и старением. Да, это вот, научная новизна, соответственно. Теоретическая, практическая значимость работы – отмечены и подчёркивается. Степень достоверности. Ну исследования проведения с помощью современных методов и подходов различных, методов создания кДНК библиотек иммунных рецепторов, методов секвенирования нового поколения, ну и так далее. Личное участие соискателя. Исследования проведены с 2016 г. по 2021 г., все экспериментальные и теоретические исследования по теме диссертации проведены лично соискателем или при его непосредственном участии совместно с сотрудниками отдела адаптивного иммунитета нашего института. Все основные результаты опубликованы в четырёх статьях, в серьёзных очень изданиях и, соответственно, что работа диссертационная соответствует заявляемой специальности, 1.5.3 - молекулярная биология и, соответственно, работа рекомендуется к защите на соискание соответствующие учёной степени. Подписано - секретарь семинара Брюшкова, кандидат биологических наук, председатель семинара –

Мерзляк, кандидат биологических наук, зам. директора - Ямпольский, и это заключение утверждено академиком Александром Габибовичем Габибовым.

Теперь по поводу ведущей организации (*зачитывает отзыв ведущей организации, отзыв положительный*). Ведущая организация у нас Федеральное государственное бюджетное учреждение Государственный научный центр институт иммунологии Федерального медико-биологического агентства. Отзыв полностью положительный, опять же начинается с тем, что подчёркивается актуальность вот этой вот работы. Ну, об этом тоже мы, так сказать, уже слышали. Соответствие темы диссертации научной специальности. Значит, признаётся, что соответствует специальности 1.5.3 - молекулярная биология. Основные результаты и их достоверность. Исследование спланировано адекватно сформулированным задачам и выполнено методически правильно. Предмет исследования. Изучение возрастных изменений структуры адаптивного иммунного ответа у грызуна *Spalax galili*. Применение современных иммунологических и молекулярно-генетических методов исследования обосновывает достоверность результатов. Объём и структуры работы соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидат биологических наук по этой специальности. Научная новизна. Представляет значительный интерес... Особенности старения и обитания таких организмов позволяют им задействовать ранее не описанные механизмы борьбы с заболеваниями. В результате исследования автором впервые установлено, что разнообразие репертуара Т-клеточных рецепторов *Spalax galili* не снижается с возрастом, в отличие от мышей и человека. По всей видимости, это происходит из-за того, что в ходе эволюции слепыши выработали новый механизм, который позволяет им избежать накопления крупных клонов Т-клеток с возрастом. Автором проведён анатомически анализ структуры тимуса слепышей и было показано, что он инволюирует с возрастом и таким образом не может обеспечить поддержание разнообразия тел Т-лимфоцитов. Да, дальше теоретическая значимость работы, научно-практическая значимость. Используя разработанные методы, автор показал, что слепыш обладает ранее не описанными для других млекопитающих особенностями адаптивного иммунитета, в том числе показал, что с возрастом у этих животных не наблюдается падение разнообразия репертуаров Т-клеточных рецепторов в периферических органах. Диссертация написана в традиционном стиле состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, раздела, посвящённого результатам, заключения и выводов. 184 литературных источника. Объём

диссертации составляет 135 страниц машинописного текста. Обзор литературы. Автор компетентно проводит анализ современного понимания особенностей развития адаптивного иммунного ответа, его изменений с возрастом. Материалы и методы подробно описаны, все методы, которые использованы. Выводы диссертации обоснованы, вытекают непосредственно из экспериментальных данных полученных диссертантом. Четыре работы опубликовано. Ну вот здесь вот я не вижу совершенно замечаний никаких в этой диссертационной работе со стороны ведущей организации. Дальше просто в конце подчёркнуто, что работа соответствует установленным положениям о присуждении ученых степеней, а автор заслуживает присуждения искомой степени. Отзыв подготовил, исполняющий обязанности завидующего лаборатории молекулярной иммуногенетики, как я сказал, это ГНЦ Институт Иммунологии ФМБА России, доктор биологических наук Кофиади, и отзыв, соответственно, утверждён директором этого учреждения, профессором членом корреспондентом Российской академии наук Хаитовым.

Мирошников А.И., председатель:

Всё?

Олейников В.А., ученый секретарь:

Без замечаний, да.

Мирошников А.И., председатель:

А на автореферат есть отзывы?

Олейников В.А., ученый секретарь:

А на автореферат нет никаких.

Мирошников А.И., председатель:

Ну тогда, что переходим к оппонированию. Пожалуйста, Дмитрий Владимирович.

Купраш Д.В., оппонент:

(Излагает отзыв, отзыв положительный). Добрый день дорогие коллеги. Большое спасибо за приглашение оппонировать. Это замечательная работа, большое удовольствие

такие работы изучать, начиная с поста Дмитрий Михайловича, где он очень ярко и литературно написал про незлобивость иммунной системы. Дальше погрузиться уже в детали этой работы. Все это совершенно замечательно. Насчет того, где здесь яйцо и где курица, то есть такое устройство иммунной системы является следствием специальной физиологии и так сказать задержанного старения животного или наоборот, какая-то генетика, адаптивного иммунитета существенно влияет на то, что оно не стареет. Это непонятно, потому что сначала нужно найти какие-то способы в это вмешаться. То есть если придумать, как включить, например, похожую на мышь дифференцировку эффекторных Т-лимфоцитов с соответствующими, значит, экспансиями и популяциями и так далее, и чтобы животное вдруг начало из-за этого стареть. Вот это было бы интересно, но это где-то в дальнейшей перспективе. А пока Марк и коллеги находятся на ранней стадии изучения, которая сама по себе очень замечательна и интересна. А ещё у меня в отзыве здесь сделан пассаж насчёт выбора журнала. Это тоже очень интересно. Статья опубликована в первом томе журнала Nature Aging. С точки зрения библиометрии и получения стимулирующих надбавок – это совершенно провальный ход, потому что импакт-фактор отсутствуют как класс, но этот коллектив, конечно, может себе позволить такие действия. Ну и чем ещё? Какими ещё работами наполнять первые книжки таких знаковых журналов. К тому моменту, когда импакт-фактор подсчитают, можно не сомневаться, что и этой цифрой тоже можно будет гордиться. И, наверное, я перейду сразу к замечаниям, которых у меня есть какое-то количество.

Общее замечание, на которое, наверное, можно по существу не отвечать, что работа в целом страдает от чрезмерной лаконичности. Это плюс, когда нужно всё прочитать - количество текста не очень большое.

Мирошников А.И., председатель:

Но когда пять лет делают работу, вы же представляете.

Купраш Д.В., оппонент:

Но во многих местах не хватает пояснений каких-то деталей и не хватает рассуждений по сделанным результатам. Собственно, раздел «обсуждения», вообще, как таковой отсутствует. Имеются краткие фразы в конце каждого подразделения результатов, что хорошо - это правильный стиль, и небольшое заключение размером чуть больше

страницы. Ну в общем для такого нового объекта, конечно, хотелось бы, чтобы автор как-то порассуждал о перспективах, возможных направлениях дальнейших исследований. Тем более, что рассуждать он совершенно замечательно умеет. Видимо просто не было времени, что досадно.

Дальше, вот наблюдение, которое уже было озвучено в докладе, а в тексте оно, значит, просто совсем лапидарно прошло - то, что две копии гена, кодирующего константную часть иммуноглобулина M и отсутствует в геноме заготовка для иммуноглобулина D. С точки зрения того, что мы знаем про иммунную систему мыши и человека, это кажется довольно революционной вещью, потому что иммуноглобулин D, он как бы прямой защитной функции в качестве антитела не несёт, но является важным регуляторным поверхностным белком по именно по этому маркеру смотрят являются ли B клетки наивные компетентными или анергичными и в реакциях во вторичных лимфоидных органах, по видимому, взаимодействием иммуноглобулина D с антигенами играет важную роль. Опять же понятно, что экспериментальное выяснение этого вопроса выходят за рамки работы, возможно, потребовала бы изготовления «накинной» мыши с модельным иммуноглобулином D или что-то в этом роде, но рассуждать, конечно, тут есть о чём.

На самом деле вот эта картинка, которая здесь осталось на экране, она тоже относится к одному из выводов. Да как раз вот третий. То есть замечаний. Третье замечание, как раз про данные по мутагенезу и тут всё, как бы связывается в комплексе. То есть, у мышей не всё, но значительная часть процесса гипермутагенеза, она как раз сопряжена с переключением изотипов и логичным образом получается, что у иммуноглобулинов G гипермутаций существенно больше чем в M. Именно, потому что после переключения с M на G, на входе в герминативный центр начинается этот процесс. Вот он здесь проходит. А у слепыша всё наоборот, что означает, что, даже те гипермутации, которые обнаруживаются в иммуноглобулинах G, они, видимо, не являются следствием процесса гипермутагенеза во вторичных лимфоидных органах, а как-то мимо проходят и те клоны с IgM, которые с высоким процентом мутации - они вообще не переключаются на G, потому что, если бы они переключались, то потом бы это здесь видели. А кроме того, тут есть разница, что у новорождённых слепышат много иммуноглобулина G, что совсем, так сказать, противоестественно с точки зрения мышинной физиологии, потому что там при рождении адаптивный иммунитет совершенно незрелый и вторичные лимфоидные органы ещё недоразвиты. Поэтому тут ну прямо целый роман можно было бы написать в

дискуссии. Очень интересно было бы посмотреть, например, что вообще происходит с лимфоузлами в этих животных, выделить оттуда клетки, посмотреть, что там с генетикой адаптивного иммунитета. У новорождённых мышат из нет, они есть? На сколько они развиты? Ну, естественно, начать и кончить, во-первых. Во-вторых, почти для всего этого. Нужны были бы антитела, которых нет. Но вот порассуждать и, так сказать, наложить вот эти данные на то, что известно на мышь и что-то такое подумать, было бы интересно. Это было бы интересно читать и писать, наверное, тоже, было бы время. А по поводу антител как раз четвертое замечание. Немножко странно, что антитела к CD3, CD4, CD44, это все три очень важные молекулы, даже с ними трем много, что можно было бы узнать про T-клетки... Вроде, они что-то показали, а потом перестали показывать. Сначала вроде бы они были обозначены как специфические, а потом с ним ничего не получилось. Не очень понятно, что это значит и всё-таки они рабочие или нерабочие? Поскольку на выходе вообще совсем никаких антител не получилось, то, естественно вопрос, который тоже можно было бы сразу в дискуссии озвучить: а что дальше? Нужно основывать фирму, которая будет клетками слепыша иммунизировать каких-то других животных и систематически получать или это можно сделать при помощи каких-то современных подходов с комбинаторикой и микрофлюидикой, которая так хорошо развит в вашем институте. Также я не нашёл ничего по этому поводу. Следующее замечание по поводу, пятое по номеру, по поводу нормализации данных по экспрессии. Там используются три гена, кодирующие компоненты T-клеточного рецептора CD3 дельта, CD3 эpsilon и, собственно, бета цепь самого рецептора. Параллельно это сделано у мыши. У мыши данные по транскрипции прямо как из учебника, поскольку эти три субъединицы, они в таком стехиометрическом соотношении в рецепторе соединяются, друг без друга непонятно, что им в T-клетке делать и экспрессия на уровне генов замечательно скоординирована. А у слепыша очень низкие цифры для гена, кодирующего бета цепь. Это непонятно. Это никак не обсуждается. А вот тоже хотелось бы услышать, что это, значит, как это интерпретируется. И корректно ли вообще такой странный ген бета цепи учитывать при нормализации, может быть двух субъединиц хватило бы, это я уже не знаю. Шестой пункт насчёт количества мышей на группу, то есть слепышей на группу. Наверное, это связано с тем, что это дикие животные. Институт экологии, наверное, каждого слепыша, с кровью отрывал от сердца. Это явное ограничение и значит, насколько корректно просто по таким группам усреднять. Особенно мне бросилось в

глаза, одно из трёх животных в группе старых слепышей. Там прямо явно что-то было иначе. IL10 очень высокий. Целый ряд иммунных рецептов совершенно не так экспрессируется, как у двух других. Значит, может быть, его надо было исключить и может быть, надо было про неё что-то отдельно написать и как-то на это обратить внимание. На седьмой замечание тоже можно, наверное, не отвечать. Оно про то, что там какое-то количество обнаруживается оговорок и странных выражений. В каком-то месте написано, что наивные В-клетки экспрессируют и IgM и IgG - явно опечатка, потому что в другом месте написано правильно. Но человек с иммунологическим глазом такую опечатку ни за что бы не пропустил. SPF статус назван стерильным. В ещё одном месте написано, что мыши являются линейными животными. Тоже совершенно понятно, что автор понимает, о чём он говорит, но без оговорки, что речь идёт о лабораторных линиях - это выражение тоже становится неточным. Будет интересно услышать ответы на те замечания, где есть, что ответить. Но никакие эти замечания не являются принципиальными. Не влияют на достоверность сделанных выводов. И не снижают моего замечательного очень высокого положительного впечатления от этой замечательной работы. Диссертационная работа Марка Александрович Израельсона «Организация адаптивного...». Нужно зачитывать дословно? Ну то есть, тогда я не буду зачитывать. Тут, выверенный с участием сотрудников диссертационного совета параграф о том, что всё соответствует, все необходимые изменения постановления учтены, а автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности молекулярная биология. Спасибо.

Мирошников А.И., председатель:

Спасибо, Дмитрий Владимирович. Ну давайте, придётся вам ещё роман писать.

Израельсон М.А., соискатель:

Спасибо большое за вопросы. Ну про лаконичности и про формулировки – признаю свои огрехи. А что касается по существу. Про IGHM тут такая история, что, во-первых, ну, разделить их нельзя, последовательности полностью одинаковые. При этом надо сказать, что это на самом деле, всё-таки требует ещё дополнительного исследования, потому что, а они находятся на разных контигах в опубликованном геноме. И вообще есть как бы некое подозрение, что может быть это всё-таки и один. А вот про IGHD. Действительно

интересно, но я бы не сказал, что это... Ну то есть, во-первых, это не уникально для слепыша, - для кролика, например, показано отсутствие IGHD. Не полностью, правда. Вначале показали, что вообще нет, а потом в другой статье показали, что у него куска нет, он не функциональный. Но действительно интересно как он с этим справится. Ну и плюс у мышей было показано, что нокаут тоже не переводил к каким-то значимым проблемам в развитии В-клеточного иммунитета. Да интересно посмотреть. Плюс, в принципе, функция, IGHD она, удивление, до сих пор остаётся такой немножечко загадочной. Я знаю, что есть вопросы, изучающие аутореактивность, что в него больше аутореактивные клоны переходят. Что есть регуляция аутореактивности в этом переключении IgM и IgD. Далее про гипермутации. Да действительно здесь очень интересное распределение. Как будто у слепыша распряжены процессы свитчинга изотипов и гипермутации. И возможно, есть какая-то группа клеток, которая IgM которая претерпевает гипермутагенез и при этом не проходит через смену изотипа. Конечно, для того, чтобы сделать какие-то дальше более интересные выводы, это нужно отдельно исследовать. Посмотреть хотя бы на экспрессию, конкретных белков. Белок AID который там и там участвуют и вот непонятно, как получается так, что одно происходит другое нет. Что у нас там дальше? Да, про антитела! У меня тут нет на самом деле картинки какой-то. История была такая, что мы подобрали палитру антител. Различные антитела для мышей, для крыс, для человека, межвидовые антитела и начали проверять по одному. Какие-то не дали сигнала вообще, какие-то дали по цитофлуориметрии сигнал положительный. Мы обрадовались. А дальше начали их пытаться в комбинировании смотреть, а потом мы увидели, что очень непонятно получается. Например, CD4 красится вместе с CD19, которые мы отдельно видели, что положительные и вот дальше началась вот эта вот сумятица. Мы взяли какие-то наиболее, как нам казалось, достоверные. Там было для очень много видов к CD3 эпсилон антитело, который часто используется на самом деле, потому что довольно консервативная субъединица. Провели клеточный сортинг популяций, сделали транскриптомы этих популяций и увидели, что не было обогащения. Вот такая произошла с этим история. Почему? Это не очень понятно. Во-первых, есть статья по поводу того, что статус гликозилирования какой-то необычной есть у слепыша и даже была такая смелая попытка обработать гликозилазой, чтобы вот это всё заработало, но не заработало. Было ожидание, что может быть сейчас снимем эти гликозилированные метки. А по поводу того, как их получать? Ну да, то есть, либо открывать отдельную компанию,

которая будет заниматься тем, что будет получать растворимые CD3 эпсилон, вкалывать животным и искать. С другой стороны, опять-таки, если это проблема в гликозилировании, то это тоже никак не решит. То, что ген встроим. Ну возможно, если получить растворимый CD3, может быть какие-то эпитопы получится зацепить.

Про нормализацию данных. У меня есть картинка вот такая. Да у меня был пропущен в докладе специально TRBC. Ну, во-первых, тут надо сказать, что немножко разные шкалы. Если посмотреть, то на самом деле не такая большая с одной стороны, во-первых, разница, во-вторых, мы всё-таки смотрим на данные транскрипции, генов. Возможно это не всегда должно отображать стехиометрию в конце белка, может быть присутствует какая-то регуляция, которая приводит к тому, что почему-то на уровне РНК мы видим меньше. Хотя, ну, опять-таки. Если посмотреть, то на самом деле не так драматично, потому что ну, вот здесь предположим, что уровень по TPM где-то там около 50. Это - разница, но она не прямо колоссальная и не в несколько раз, как кажется при первом просмотре на картинку, когда не обращаешь внимания на шкалы. То, что мы использовали это для нормализации данных, в целом, мне кажется, это всё равно легитимно, потому что мы всё-таки сравниваем внутри, как бы группы. То есть нам важно падение, нам важно то, что мы видим, что падает а и TRBC и э падает CD3, безотносительно того, как это происходит у другого вида. Поэтому более-менее, все-таки, мне кажется, что имеет место быть такая нормализация.

Про слепышей, про группы. Да действительно особенно проблема со старыми слепышами - там собирается целый консилиум, который разбирает их на всё. Я их вскрывал, приходили из разных частей института. «Нам нужен мозг. Нам нужно вот это.» Очень редкие образцы, поэтому всё что было, мы их использовали. Сейчас стареет новая партия. Про то что один не похож. Действительно видно, что П10 у него выделяется. Мы старались все-таки делать выводы только там, где мы видим подтверждение и в двух других. Да действительно, если посмотреть на вот дополнительную картинку, тут видно, что, у него что-то происходит, что он явно выделяется. Мы эти данные честно приводим, но конкретно на нем и конкретно на тех различиях в которые вносит весомый вклад именно этот зверь мы выводов не делаем.

Мне кажется, что всё, не упустил ничего. Всё спасибо.

Мирошников А.И., председатель:

Дмитрий Владимирович, вы удовлетворены?

Купраш Д.В., оппонент:

Да.

Мирошников А.И., председатель:

Окей. Так, у нас второго оппонента нет, заболел.

Олейников В.А., ученый секретарь:

Да по объективным причинам он отсутствует. *(Зачитывает отзыв, отзыв положительный)*. И вот здесь у меня в руках отзыв Чурова Алексея Викторовича. Отзыв полностью положительный. Причем он замечательно полностью положительный. Я даже не буду зачитывать его позитивную часть. Ну хотя бы два слова там опять же. По классическому схеме диссертация. Носит полный законченный характер, как в научном плане, так и в оформлении. А дальше идет достаточно, так сказать, подробно то, что мы уже слышали. А это изложение результатов. Результаты, раздел состоит из 12 глав и тут значит, шаг за шаг излагаются подробно результаты. А дальше насчет замечаний, действительно ему очень всё понравилось этому оппоненту, замечаний никаких нет и дальше всё кончается тем, что данная диссертация соответствует всем требованиям, предъявляемым ВАК Российской Федерации к кандидатским диссертациям. Соответственно, сам диссертант заслужит присуждение искомой степени по специальности 1.5.3 - молекулярная биология. Официальной оппонент, директор института изучения старения имени Пирогова Минздрава России кандидат биологических наук Алексей Викторович Чуров. Без замечаний.

Мирошников А.И., председатель:

Спасибо. Так, теперь дискуссия. Желаящие выступить? Александр Габирович.

Габиров А.Г.:

Я очень люблю слепыша и не могу пропустить. Да вы знаете, да, я поскольку вот не биолог совсем по образованию. Вы знаете, Анатолий Иванович. Поэтому я всегда очень люблю какие-то такие яркие очень биологические вещи. Вот, когда я узнал о

существование слепыша от ушедшего от нас недавно Владимира Петровича, и он мне их показывал, и мы обсуждали с ним, действительно, как проблему рака с помощью их... Вот с этого момента мне они очень понравились. И когда возникли вот работы первые Дмитрия, и вот я теперь знаю исполнителя. Я правда знал его и раньше, часть этих работ. Я должен сказать, что, конечно, проведён очень интересный анализ, он во многом биоинформационный, если вот первый сегодняшний... Обе диссертации, так получилось, они носят иммунологический такой рефрен, и если во второй части, конечно, очень была важна биоинформационная составляющая, в первой больше действительно эксперимент такой достаточно продуманный, и это очень приятно, что в нашем совете состоялось. Здесь было, конечно, достаточно много замечаний сделанных, Дмитрием, но они все на пользу. Я честно жду ещё очень интересных выводов от этой системы. Наверное, вы как-то можете сравнивать со старением и близнецами. И вот, если это всё наложить функционально, может быть в каком-то более, чем 3D пространстве, то, может быть, получатся какие-то замечательные... Я, честно говоря, не уверен, что всё зависит вот от иммунной системы. То есть всё-таки не только иммунная система. Хотя вот Недоспасов всегда меня цитирует. Я весы люблю показывать: рак, ослабление, иммунитет - повышение на весах, но всё-таки, наверное, там есть ещё и другие факторы, но вот очень хорошая диссертация, и, безусловно, надо голосовать. И всё-таки я скажу, что обе диссертации - это норма. Это не существенно выше нормы. Мы не должны снижать планку на совете.

Мирошников А.И., председатель:

Спасибо вам. Еще желающие.

Чудаков Д.М., научный консультант:

Коллеги, если позволите, я коротко совсем. Я не руководитель, а научный консультант и кажется в этой роли я могу два слова сказать и про науку. Мне не возбраняется.

Мирошников А.И., председатель:

В любой роли имеете право в свободной дискуссии.

Чудаков Д.М., научный консультант:

А ну, да, тем более. Ну да, два комментария. Ну, вот, просто про сам термин, что было употреблено не незлобливость, а незлопамятность, и за этой формулировкой стоит на самом деле, целая концепция, как мы сейчас представляем себе, как вообще с возрастом, могут накапливаться ошибки адаптивного иммунитета и к чему это приводит?

Вот этот баланс между долговременной и кратковременной памятью это, видимо, эволюционно неоднозначный выбор, что выгоднее: защитить лучше от повторной инфекции более надёжно или защититься от как бы запомненных, выученных решений нашей иммунной системы, которые не всегда безопасны и могут приводить к такому упорному воспроизведению каких-то может быть небольших конфликтных событий с микробиотой, может быть каких-то минорных аутоиммунных, может быть даже ответ на какую-то инфекцию, но не оптимальный ответ, а слишком продолжительный - вот всё это вместе в нашем сегодняшнем представлении, видимо, стоит за термином *inflammaging* и стоит за тем, как формируются ниши для развития онкологических заболеваний, объясняет, подводят почему этот зверь не болеет. Ну, вот такая прямо концепция - это интересно. Это зверь, он нам позволил об этом задуматься как-то глубже и увидеть, что вообще-то можно, оказывается, по-другому.

И два слова о перспективах, как-то вот не прозвучало немножко: с одной стороны, пытаемся стянуть с человеком. И у нас есть данные и по людям. Ну и в мире есть различные данные. И вот есть намётки, что, в принципе, такая организация иммунной системы, видимо, ближе тем, кого мы называем долгожителями или люди, которые преодолевают, там 70-80 летний рубеж. У них немножко по-другому может быть организована иммунная система. Мы это давно видели с Олей Британовой ещё на первых работах по репертуарам, но сейчас больше да, то есть, те из нас, кому суждено жить долго, может быть чуть больше похожи в организации иммунной системы на слепыша. А антитела сделать очень сложно, но кажется, не нужно, потому что сейчас есть *single-cell* транскриптомика, которая позволяет очень много разложить и без поверхностных маркеров, и мы работаем, у нас получены образцы, сейчас они в анализе, честно говоря, уже целый год мы с этим мучаемся или больше, сложно и много биоинформатики... Но там всё подтверждается и красиво и раскладывается. Там можно увидеть субпопуляции. Ну всё равно мы ограничены материалом, всё равно зверей старых, к сожалению, мало, но тем не менее это вот. Ну и в принципе, есть другие виды, на которые можно перескочить попробовать, но мы же начали с того, что попробовали найти голову землекопа старого.

Нам его, естественно, не дали люди, которые с этим в Америке работают. Они сказали, что очень хорошо, но нужно нам самим вот, поэтому тут всё от материалов. Всё спасибо, много говорю, а так работа прекрасная. Марк, спасибо большое.

Мирошников А.И., председатель:

Спасибо. Марк Александрович.

Израельсон М.А., соискатель:

Большое спасибо всем присутствующим, что заслушали доклад. Спасибо, отзывы. Я хотел бы отдельно выразить сейчас благодарности сотрудникам нашей лаборатории. В особенности научному руководителю Британовой Ольге, научному консультанту Дмитрию Чудакову и другим сотрудникам, Екатерине Мерзляк, Ирине Шагиной, также группе биоинформатиков, с которыми мы активно вместе работали. Это Дмитрий Болотин, от которого я многому научился в биоинформатике. Михаил Шугай. Евгений Егоров тоже коллега, который уже работает не в этом институте, но очень поддерживал в течение всей моей здесь работы. Алексей Давыдов и Мария Мецгер - сотрудники лаборатории в Брно, которые активно с нами работают по этому проекту. Дмитрий Староверов - сотрудник нашей лаборатории. Так же, сотрудники, в особенности профессор Имад Шамс, а лаборатории в Хайфе. Там была проведена большая часть исследования, особенно всё, что было связано с непосредственно животными, с получением материала и сейчас мы продолжаем с ним активно сотрудничать. Вот то, что Дмитрий сказал про single-cell данные, то есть. Уже тоже была проделана определённая работа. Приехали туда, выделяли всё, отправляли на транскриптом единичных клеток. Вот, поэтому большое спасибо всем, кто поддерживал меня. И вообще, в принципе, всей лаборатории. Я провёл здесь, вот этим летом будет практически 10 лет, и за это время это стало такой довольно семьёй и друзьями - все люди, с которыми я здесь был, поэтому мне очень приятно, что это такая часть моей жизни была. Спасибо.

Мирошников А.И., председатель:

Спасибо. Коллеги, ну что, голосуем? Давайте.

(идет тайное голосование)

