

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.037.01,**  
созданного на базе федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук,  
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук  
аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 22 февраля 2023 г. № 6

О присуждении **Израельсону Марку Александровичу**, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Организация адаптивного иммунитета долгоживущего грызуна *Spralax galili*» по специальности 1.5.3 - молекулярная биология принята к защите 7 декабря 2022 г. (протокол заседания № 30) диссертационным советом 24.1.037.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) (117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклуха-Маклая, дом 16/10) и действующим на основании Приказов Минобрнауки России №75/нк от 15.02.2013 г. и № 561 от 03.06.2021 г.

Соискатель – Израельсон Марк Александрович, 3 ноября 1990 года рождения. В 2015 г. окончил магистратуру Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова по направлению 06.04.01 – Биология. С 2015 г. по 2022 г. был сотрудником отдела геномики адаптивного иммунитета ИБХ РАН. Диссертация выполнена в группе структурной организации Т-клеточного иммунитета отдела геномики адаптивного иммунитета ИБХ РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Британова Ольга Владимировна, руководитель группы структурной организации Т-клеточного иммунитета федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный консультант – доктор биологических наук Чудаков Дмитрий Михайлович, руководитель отдела геномики адаптивного иммунитета федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты **Купраш Дмитрий Владимирович**, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии Федерального государственного

бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, и **Чуров Алексей Викторович**, кандидат биологических наук, директор Института изучения старения Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации дали *положительные отзывы* на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России в своем положительном отзыве, составленном и подписанном исполняющим обязанности заведующего лабораторией молекулярной иммуногенетики, доктором биологических наук Кофиади Ильей Андреевичем, и утвержденном директором, чл.-корр. РАН Хаитовым Рахимом Мусаевичем, указала, что диссертация Израельсона Марка Александровича является завершенной научно-квалификационной работой и полностью соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. №335; 02.08.2016 г. №748; 29.05.2017г. №650; 20.03.2021г. №426; 11.09.2021 г. №1539; 26.09.2022 г. №1690), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

Соискатель имеет 14 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 4 работы общим объемом 6 печ.л. в рецензируемых научных изданиях из списка, рекомендованного Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций (входят в базы Web of Science и Scopus). В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы по теме, в которые М.А. Израельсон внес основной либо существенный вклад, включают:

1. Izraelson M, Metsger M, Davydov AN, Shagina IA, Dronina MA, Obratsova AS, Miskevich DA, Mamedov IZ, Volchkova LN, Nakonechnaya TO, Shugay M, Bolotin DA, Staroverov DB, Sharonov GV, Kondratyuk EY, Zagaynova EV, Lukyanov S, Shams I, Britanova OV, Chudakov DM. Distinct organization of adaptive immunity in the long-lived rodent *Spalax galili*. // Nat Aging, 2021, 1 (2), p. 179–189.
2. Izraelson M, Nakonechnaya TO, Moltedo B, Egorov ES, Kasatskaya SA, Putintseva EV, Mamedov IZ, Staroverov DB, Shemiakina II, Zakharova MY, Davydov AN, Bolotin DA, Shugay M, Chudakov DM, Rudensky AY, Britanova OV Comparative analysis of murine T-cell receptor repertoires. // Immunology 2017 153 (2), p. 133–144.
3. Britanova OV, Shugay M, Merzlyak EM, Staroverov DB, Putintseva EV, Turchaninova MA, Mamedov IZ, Pogorelyy MV, Bolotin DA, Izraelson M, Davydov AN, Egorov ES,

- Kasatskaya SA, Rebrikov DV, Lukyanov S, Chudakov DM. Dynamics of individual T Cell repertoires: From cord blood to centenarians. // *J Immunol* 2016 196 (12), 5005–5013.
4. Bagaev DV, Zvyagin IV, Putintseva EV, Izraelson M, Britanova OV, Chudakov DM, Shugay M. VDJviz: a versatile browser for immunogenomics data. // *BMC Genomics*. 2016 Jun 13;17:453. doi: 10.1186/s12864-016-2799-7.

На диссертацию поступили отзывы:

1. Отзыв официального оппонента д.б.н., профессора Купраша Дмитрия Владимировича, отзыв положительный, содержит следующие вопросы и замечания:

1) Работа страдает от чрезмерной лаконичности, особенно в части обсуждения полученных результатов. Собственно, раздел «Обсуждение» как таковой в диссертации отсутствует, есть лишь краткие (1-2 фразами) резюме в конце каждого подраздела результатов, «Заключение» объемом чуть больше 1 стр., и выводы. К издержкам краткости можно отнести и упомянутое выше выражение «метрика разнообразия TCR» в формулировке задачи 1 на стр. 48. Внятное объяснение, что это такое, приведено лишь на стр. 62 в разделе «Результаты», и больше нигде не повторяется (а это было бы полезно для облегчения понимания).

2) В качестве одного из примеров чрезмерной лаконичности можно привести наблюдение, что у слепыша имеется две копии изоформа IGHM (кодирующего IgM) и отсутствует IGHD (кодирующий IgD). Это наблюдение упоминается однажды на стр. 69 и больше не затрагивается. Между тем возникает множество очевидных вопросов, в частности, можно ли различить между собой две копии IGHM и если да, то что можно сказать о частотах их использования? Какие последствия для физиологии В-лимфоцитов несет отсутствие IgD, который является важным регуляторным иммуноглобулином, по-видимому, важным для реакций в герминативных центрах? Моно ли здесь предположить связь с тем, что у слепыша такие реакции, по-видимому, снижены?

3) Крайне скупо обсуждены и данные по гипермутагенезу. Между тем, рассматривая рисунок 30, можно заметить, что частота гипермутаций у слепыша не только мало меняется с возрастом, но и совершенно иначе распределена между изоформами: максимальная частота гипермутаций наблюдается у IGHM изоформа, она не только выше частоты гипермутаций IGHG у слепыша, но и не слишком уступает частоте гипермутаций IGHG у мыши! Такое положение дел резко контрастирует со статусом гипермутагенеза IgM у мышей (который у молодых животных фактически не происходит) и, вероятно, указывает на существенно иную, по сравнению с мышами, физиологию В-клеточного отдела иммунной системы.

4) Озадачивает раздел о тестировании антител к поверхностным маркерам. Как объяснить, что антитела к CD3, CD4 и CD44 вначале дали некий положительный сигнал, а

затем не дали никакой внятной картины? Возможно, положительный сигнал был некачественным или был неправильно проинтерпретирован? Это можно было бы понять по первичным данным цитофлуориметрии, которые в работе не приведены. Также непонятно, что дальше? Если вообще никакие кросс-реагирующие антитела не подходят, то как следует решать задачу получения иммунологических реагентов для данного объекта?

5) На рис. 24 показаны данные по экспрессии генов *Cd3d*, *Cd3e* и *Trbc1*, которые в дальнейшем используются для нормализации. *CD3δ* и *CD3ε* - сигнальные компоненты комплекса TCR (рецептора T-клеток), а *Trbc1* кодирует константную часть TCRβ. В состав комплекса TCR эти белки входят в практически стехиометрическом соотношении, поэтому их экспрессия хорошо скоординирована, что мы и наблюдаем у мышей. Однако у слепыша скоординированы только *Cd3d* и *Cd3e*, а экспрессия *Trbc1* практически отсутствует. Как это возможно, ведь T-клеток без TCRβ не бывает? В образце были какие-то другие лимфоциты? Что-то технически пошло не так? Можно ли использовать эти данные для нормализации?

6) Насколько корректно говорить о закономерностях экспрессии генов в различных группах животных на основании всего 3 особей на группу (рис. 25, 26)? Особенно бросается в глаза первое животное в группе старых слепышей. В этом образце резко повышен IL-10 и целый ряд иммунных рецепторов. В организме явно что-то происходило в момент взятия образцов, корректно ли усреднять эти данные с двумя другими образцами из этой группы?

7) В работе встречается некоторое количество опечаток, а также неудачных или неточных выражений, указывающих на то, что автору работы ближе именно молекулярная биология, а не иммунология или эволюционная биология. Например, на стр. 24 написано «Изначально наивная B-клетка может экспрессировать два изотипа IgM и IgG» - опечатка, которая обязательно привлекла бы внимание иммунолога (на стр. 30 имеется верное утверждение об IgM и IgD). Фраза «Мыши содержались в стерильных условиях» применительно к SPF статусу является весьма неточной, как и утверждение «Мыши являются линейными животными» без уточнения, что речь идет об инбредных лабораторных линиях.

2. Отзыв официального оппонента к.б.н. Чурова Алексея Викторовича, Отзыв положительный и не содержит замечаний.

3. Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный и не содержит замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области молекулярной биологии и иммунологии, которые

подтверждены сериями их публикаций в ведущих российских и международных журналах. Официальный оппонент Купраш Д.В. является ведущим специалистом в области молекулярной биологии и иммунологии, его работы посвящены в том числе нарушениям в регуляции экспрессии генов лигандов и рецепторов иммунной системы, связанным с раком и различными иммунопатологиями. Тематика работ официального оппонента Чурова А.В. связана с исследованиями регуляторных Т-клеток и иммунотерапии. Главные научные направления коллектива ведущей организации связаны с разработкой молекулярных и клеточных технологий диагностики и лечения социально-значимых иммунозависимых заболеваний, установление молекулярных механизмов реализации защитного, восстановительного и адаптационного потенциала организма в условиях действия болезнетворных факторов внутренней и окружающей среды, а также определением индивидуальных особенностей наследования и регулирования признаков, связанных с функционированием организма в норме и при патологии. Высокая квалификация, большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований впервые охарактеризована структура адаптивного иммунитета долгоживущего вида грызунов с уникальными свойствами, впервые обнаружено поддержание уровня разнообразия Т-клеточных рецепторов у млекопитающих в течение всей жизни, а также показан гомеостаз адаптивного иммунитета без накопления крупных клональных экспансий и активной дифференцировки наивных клеток в эффекторные, что вероятно влияет на увеличенную продолжительность жизни у этих животных, кроме того были разработаны молекулярно-биологические и биоинформатические методы для получения данных репертуаров Т- и В-лимфоцитов и анализа их свойств.

**Теоретическая значимость** исследования заключается в том, что полученные результаты расширяют понимание возможных стратегий функционального развития адаптивного иммунитета немодельных объектов. Были обнаружены важные особенности организации иммунитета у долгоживущего грызуна *Spalax galili*, позволяющие ему избегать многих проблем, возникающих у других известных млекопитающих с возрастом. Дальнейшие исследования в этой области представляют большой интерес для изучения вопросов старения и развития иммунитета.

**Значение** полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что разработаны молекулярно-биологические и биоинформатические методы для получения данных репертуаров Т- и В-лимфоцитов и анализа свойств полученных

репертуаров. Эти методы могут быть использованы при дальнейшем изучении как данного немодельного объекта, так и для решения схожих задач в других системах. Кроме того, обнаруженные особенности устройства иммунитета слепыша могут впоследствии быть использованы при разработке иммунно-терапевтических подходов к замедлению процессов старения и, как следствие, повышению продолжительности жизни у человека.

**Степень достоверности** результатов проведенных исследований сомнений не вызывает. Исследования проведены с помощью современных методов и подходов. Эксперименты выполнены в количестве, достаточном для получения статистически достоверных результатов. Научные положения, выводы и практические предложения построены на основе достоверных результатов исследований, подтвержденных первичной документацией, и согласуются с поставленными целью и задачами работы. Работа выполнена на высшем научно-методическом уровне, согласуется с независимыми данными, опубликованными по тематике, близкой к диссертационной.

**Личный вклад** соискателя состоит в непосредственном участии в выборе направления научной работы, разработке цели и задач исследования по теме диссертационной работы, компьютерной обработке данных, анализе и интерпретации полученных результатов. Все экспериментальные данные по теме диссертации получены лично соискателем (за исключением – МРТ тимуса, который был проведен сотрудниками медицинского центра Рамбам в г. Хайфа (Израиль); слепыши были предоставлены лабораторией факультета эволюции и биологии развития университета Хайфы (профессор Имад Шамс); биоинформатический анализ проводился совместно с Марией Мецгер, Давыдовым Алексеем Николаевичем (сотрудниками лаборатории Центрального Европейского Технологического Института (Брно, Чехия)) и Михаилом Шугаем – заведующим лабораторией алгоритмов иммуносеквенирования научно-исследовательского института трансляционной медицины РНИМУ имени Н.И.Пирогова). Соискатель принимал активное участие в написании и подготовке к публикации статей, представлял работу в рамках устного доклада на международной конференции.

Диссертационный совет 24.1.037.01 заключил, что диссертационная работа Израельсона Марка Александровича является законченной научно-квалификационной работой, которая вносит важный вклад в развитие молекулярной биологии и иммуногенетики. Работа написана автором самостоятельно, содержит новые и актуальные научные результаты и по своему содержанию соответствует специальности 1.5.3. – Молекулярная биология. Таким образом диссертационная работа Израельсона Марка Александровича «Организация адаптивного иммунитета долгоживущего грызуна *Spralax galili*» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по

специальности 1.5.3 - молекулярная биология соответствует всем требованиям, предъявляемым в кандидатских диссертациях «Положением о присуждении ученых степеней (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. №335; 02.08.2016 г. №748; 29.05.2017г. №650; 20.03.2021г. №426; 11.09.2021 г. №1539; 26.09.2022 г. №1690).

В ходе защиты диссертации были заданы следующие уточняющие вопросы:

- 1) Что значит расчётная сила связывания? И насколько ей можно доверять?
- 2) Почему вы рассматривали адаптивный иммунитет, а не врожденный?
- 3) Как вы думаете, какой динамики иммунного ответа стоит ждать при иммунизации слепыша?

Соискатель Израельсон Марк Александрович ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию:

- 1) Расчётная сила связывания является теоретической величиной и описывает силу взаимодействия с антигеном и по сути характеризует наличие сильно связывающих аминокислот в CDR3 участке рецептора. Так же экспериментально была подтверждена эффективность данной метрики, например в экспериментах с регуляторными Т клетками, для которых значение метрики соответствует биологическим наблюдениям о более сильном связывании антигенов по сравнению с другими Т-клеточными популяциями.
- 2) Адаптивный иммунитет представляет большой интерес, так как дает больше возможностей и механизмов чтобы точно бороться с конкретными проблемами вызванными старением и предположительно эти механизмы проще будет перенести для решения схожих проблем у человека. Однако врождённый иммунитет безусловно играет важную роль, а само старение является системной проблемой и требует системного подхода.
- 3) Были первые попытки провести такие эксперименты, однако пока нет конкретных результатов. Вероятно можно ожидать появление эффекторных популяций кратковременно после иммунизации, после чего они будут выводиться из пула клеток. При этом особый интерес конечно представляют механизмы регулирующие этот процесс очистки от эффекторных популяций Т-клеток.

На заседании 22 февраля 2023 г. диссертационный совет постановил: за решение научной задачи по характеристике организации адаптивного иммунитета долгоживущего грызуна *Spalax galili*, имеющей важное значение для развития молекулярной биологии, присудить Израельсону Марку Александровичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 8 докторов наук (по научной специальности рассматриваемой диссертации 1.5.3. – Молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель

диссертационного совета



академик РАН Мирошников А.И.

Ученый секретарь

диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

22 февраля 2023 г.