

Заключение диссертационного совета МГУ.015.1
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от 6 декабря 2024 г. № 47

О присуждении Пилунову Артему Михайловичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Трансгенные Т-лимфоциты, специфичные к минорным антигенам гистосовместимости АСС-1У и НА-1» по специальности 3.2.7. Иммунология (биологические науки) принята к защите диссертационным советом МГУ.015.1, протокол № 44 от 31.10.2024.

Соискатель Пилунов Артем Михайлович 1993 года рождения.

В 2021 году соискатель окончил аспирантуру биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Соискатель временно не работает.

Диссертация выполнена в лаборатории трансплантационной иммунологии ФГБУ Национального медицинского исследовательского центра гематологии Минздрава России.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Ефимов Григорий Александрович, старший научный директор по иммуно/Т-клеточной терапии Мильтени Биотек; заведующий лабораторией трансплантационной иммунологии ФГБУ Национального медицинского исследовательского центра гематологии Минздрава России с 2015 г. по 2022 г.

Официальные оппоненты:

Лебедев Юрий Борисович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории сравнительной и функциональной геномики, отдела геномики адаптивного иммунитета, ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; профессор (по совместительству) кафедры иммунологии биологического факультета МГУ

имени М.В.Ломоносова;

Боженко Владимир Константинович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей ФГБУ Российский научный центр рентгенорадиологии Минздрава России;

Табакон Дмитрий Вячеславович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории мультиомики Центра живых систем ФГАОУ ВО "Московский физико-технический институт (Национальный Исследовательский Университет)" дали положительные отзывы на диссертацию.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их компетентностью в областях иммунологии и онкологии, а также наличием публикаций в этих сферах исследования.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 4 работы, из них 4 статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности:

- 1 **Pilunov A.**, Romaniuk D., Shmelev A., Sheetikov S., Gabashvili A., Khmelevskaya A., Dianov D., Zornikova K., Shakirova N., Vagida M., Bogolyubova A., Efimov G. Transgenic HA-1-Specific CD8+ T-Lymphocytes Selectively Target Leukemic Cells // *Cancers*. – 2023. – Vol. 15, № 5 P. 1592
Импакт-фактор WoS (JIF) 6.575; Объем: 2,19 печатных листа*
- 2 Романюк Д. С., **Пилунов А.М.**, Ефимов Г.А., Боголюбова А.В., Паровичникова Е.Н. Минорные антигены гистосовместимости, представляемые в HLA-A* 02: 01, и стратегии их поиска // *Онкогематология*. – 2023. – Т. 18. – №. 3 – С. 115-124. Двухлетний импакт-фактор РИНЦ 0.541; Объем: 1.15 печатных листов
- 3 **Пилунов А. М.**, Романюк Д.С., Ефимов Г.А., Савченко В.Г. Минорные антигены гистосовместимости как мишени Т-клеточной иммунотерапии

* Вклад автора в публикации определен, см. текст ниже.

// Гематология и трансфузиология. – 2021. – Т. 66. – №. 3 – С. 322-345.,

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ 0.700; Объем: 2,77 печатных листа

- 4 **Пилунов А. М.**, Кучмий А.А, Шитиков С.А., Филькин С.Ю., Романюк Д.С., Розов Ф.Н., Ефимов Г.А. Модификация цитотоксических лимфоцитов рецептором, специфичным к минорному антигену гистосовместимости АСС1-У // Молекулярная биология. – 2019. – Т. 53. – № 3. – С. 456-466. Двухлетний импакт-фактор РИНЦ 1.058; Объем: 1,04 печатных листа

В рамках исследования ТКР, специфичного к МАГ АСС-1У, Пилуновым А.М. был получен лентивирусный конструкт, кодирующий АСС-1У-специфичный ТКР, была проведена работа по оптимизации протокола получения лентивирусных частиц в линии НЕК293Т. Пилуновым А.М. были получены трансгенные CD8⁺ Т-лимфоциты, специфичные к МАГ АСС-1У, и исследована их функциональная активность. Первичная культура CD8⁺ Т-лимфоцитов, специфичных к АСС-1У, была получена Анной Кучмий и Савелием Шитиковым. По результатам изучения АСС1У-специфичного ТКР, Пилуновым А.М. были проанализированы данные и написан текст статьи №4.

В исследовании ТКР, специфичных к НА-1, автором была создана панель лентивирусных конструктов, кодирующих трансгенные ТКР, получена панель трансгенных репортерных клеточных линий, несущих эти ТКР. Пилуновым А.М. был адаптирован протокол CRISPR/Cas модификации CD8⁺ Т-лимфоцитов, совмещенной с лентивирусной трансдукцией. Пилуновым А.М. были разработаны и проведены эксперименты по изучению функциональной активности и цитотоксичности НА-1-специфичных ТКР, проведен статистический анализ и визуализация данных. Биоинформатический анализ выполнен совместно с Александрой Хмелевской. По результатам изучения НА-1-специфичных ТКР, Пилуновым А.М. были собраны и проанализированы данные, и написан текст статьи №1. В рамках теоретического исследования темы диссертации, Пилуновым А.М. опубликована обзорная статья №3. Пилуновым А.М. был создан рисунок и написана часть текста в статье №2.

На диссертацию и автореферат дополнительные отзывы не поступали.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований подтверждено, что минорные антигены гистосовместимости могут быть мишенями иммунотерапии в ряде гематологических заболеваний, таких как ОМЛ, В- и Т-клеточные лейкозы. Отобранный ТКР ER28 обладает достаточной аффинностью, чтобы модифицированные им лимфоциты могли распознавать и уничтожать клетки злокачественных новообразований крови, презентующие эндогенный пептид HA-1, при этом не демонстрируя неспецифичной цитотоксичности в отношении клеток, не имеющих МАГ HA-1. Примененный в работе метод получения и исследования МАГ-специфичных ТКР, основанный на биоинформатическом анализе репертуаров ТКР антиген-специфичных экспансий с последующим клонированием индивидуальных субъединиц ТКР и их исследовании на модели репортерных лимфоцитов, может быть использован для получения и исследования ТКР, специфичных к другим антигенам.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Метод *in vitro* стимуляции наивных CD8⁺ Т-лимфоцитов дендритными клетками, презентующими экзогенный пептид, может использоваться для выявления Т-клеточных клонов, специфичных к минорным антигенам гистосовместимости. Сравнение репертуаров субъединиц ТКР в антиген-специфичной и антиген-неспецифичной фракциях Т-клеток индивидуальных культур способно выявить субъединицы, потенциально принадлежащие антиген-специфичным ТКР.
2. Проведенные функциональные исследования на линии репортерных клеток и первичных Т-лимфоцитах человека позволили отобрать из панели ТКР рецептор, обладающий наибольшей аффинностью и не проявляющий кроссреактивности на панели образцов с широким набором различных аллелей HLA.

3. Трансгенные CD8⁺ Т-лимфоциты, модифицированные отобранным HA-1-специфичным ТКР, способны специфично уничтожать клетки злокачественных новообразований кроветворной ткани пациентов, позитивных по МАГ HA-1.

На заседании 6.12.2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Пилунову А.М. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 8 докторов наук по специальности 3.2.7. Иммунология, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за – 17, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель

диссертационного совета

С.А.Недоспасов

Ученый секретарь

диссертационного совета

Д.Б.Киселевский

6 декабря 2024 г.