



**МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ
им. М.В. ЛОМОНОСОВА**

Ленинские горы, Москва,
ГСП-2, 119991
Тел.: +7 (495) 939 15 59

Утверждаю
МГУ имени М.В. Ломоносова
Член-корреспондент РАН,
доктор физико-математических
наук, профессор РАН,
проректор МГУ
А.А. Федянин

14.01.2026 № 06-26/013-03
На № _____



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

На диссертационную работу Блиновой Варвары Глебовны «Пролиферативная и супрессорная активность регуляторных Т-клеток человека с селективной экспрессией сплайс-вариантов FoxP3», представленную к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия

Актуальность темы диссертационной работы

Исследования в области биологии регуляторных Т-клеток (Трег) и их роли в иммунном ответе при физиологических и патологических условиях активно проводятся с середины 1990-х годов. С момента открытия транскрипционного фактора – белка Forkhead box protein 3 (FoxP3) как ключевого регулятора функционирования Трег, множество работ было посвящено его влиянию на различные аспекты биологии данных клеток. Большое внимание уделяют изменению активности Трег и их вовлеченности в патогенез онкологических, аутоиммунных, инфекционных заболеваний. Одним из процессов, ассоциированным с изменением функционирования Трег, является альтернативный сплайсинг (АС) пре-мРНК FoxP3. Делеции экзонов в результате АС приводят к изменению структуры FoxP3 и отражаются на его активности как транскрипционного фактора. В Трег человека описано изменение профиля экспрессируемых сплайс-вариантов FoxP3 при ряде аутоиммунных и онкологических заболеваний. Несмотря на описанные изменения, остаётся невыясненным, как экспрессия индивидуального сплайс-варианта FoxP3 отражается на функциональной активности Трег.

В диссертационной работе Блиновой В.Г. «Пролиферативная и супрессорная активность регуляторных Т-клеток человека с селективной экспрессией сплайс-вариантов FoxP3» описано влияние индукции экспрессии индивидуальных сплайс-вариантов FoxP3 на активность Трег. Результаты работы могут быть учтены при проведении дальнейших исследований, направленных на изучение молекулярных механизмов патогенеза

иммунопатологических состояний, а также при разработке клеточной терапии на основе Трег.

Научная новизна исследования

В рамках работы впервые охарактеризовали уровни мРНК четырёх индивидуальных сплайс-вариантов FoxP3 в Трег здоровых доноров и пациентов с такими аутоиммунными заболеваниями как рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз и болезнь Шегрена. В диссертации разработан и успешно применен подход по подбору оптимального размера и комбинации переключающих сплайсинг олигонуклеотидов для модуляции АС FoxP3 и получения Трег, селективно экспрессирующих индивидуальные сплайс-варианты. Впервые получены Трег, экспрессирующие индивидуальные сплайс-варианты FoxP3, и охарактеризовано их влияние на биологию клеток не только у здоровых доноров, но и у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом. Продемонстрирована взаимосвязь между делецией экзонов и понижением способности Трег к пролиферации, а также понижением эффективности ингибирования пролиферации таргетных клеток и способностью продуцировать задействованные в супрессорной активности молекулы. Индукция экспрессии содержащего все функциональные экзоны полноразмерного сплайс-варианта FoxP3 привела к существенному увеличению пролиферативной и супрессорной активности Трег. Кроме того, впервые было выявлено изменение иммунофенотипа Трег при индукции индивидуальных сплайс-вариантов FoxP3: проанализировано влияние АС FoxP3 на уровень экспрессии маркёров, задействованных в супрессорной активности (CD223, CD39, CD152); маркёров, по которым идентифицируют популяцию Трег (CD4, CD25, CD127^{low}) и маркёра Helios, позволяющего идентифицировать стабильную популяцию Трег.

Научная и практическая значимость

Изучение причин и последствий понижения количества и дисфункции Трег при различных физиологических и патологических состояниях является активно исследуемой областью. Приведенные результаты, показывающие изменения профиля сплайс-вариантов FoxP3 у пациентов с аутоиммунными заболеваниями, соотносящиеся с понижением количества Трег в периферической крови, позволяют сформировать более глубокое представление о патогенезе таких аутоиммунных заболеваний как рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз и болезнь Шегрена. Описанная в работе взаимосвязь между индивидуальными сплайс-вариантами FoxP3 и биологическими функциями Трег может лечь в основу дальнейшего изучения молекулярных путей, по которым сплайс-варианты FoxP3 реализуют свое влияние на Трег. Кроме того, корреляция между делециями экзонов и понижением активности Трег может быть учтена при последующем изучении биохимических и молекулярных составляющих патогенеза заболеваний.

Трег представляют собой перспективную мишень для разработки клеточной терапии, направленной на восстановление иммунологической толерантности при аутоиммунных состояниях и в трансплантологии. Одним из лимитирующих факторов при создании терапии является небольшое количество Трег, которое удастся получить из периферической крови. При дальнейшем развитии представленный в работе подход, позволяющий получить Трег с увеличенной пролиферативной и супрессорной активностью, может быть применен для решения описанной проблемы. Увеличение пролиферативной и супрессорной активности Трег при модуляции АС пре-мРНК FoxP3 в сторону индукции полноразмерного варианта может составить основу для создания клеточного продукта.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Научные положения, выводы и заключения, представленные в диссертационной работе, являются обоснованными и достоверными, что подтверждается использованием

современных экспериментальных методов исследования и статистической обработкой данных. Работа была выполнена с достаточным количеством технических повторов и независимых контрольных измерений, что обеспечило статистическую достоверность данных. Результаты работы не противоречат данным других исследователей. Обсуждение результатов проведено с учетом новейших достижений в области биологических и медицинских наук.

Полнота освещения положений и результатов диссертации в публикациях

Изложенные в диссертации научные положения и результаты были освещены в 12 публикациях автора, включая 6 статей в рецензируемых научных журналах и 6 работ в сборниках материалов конференций. В публикациях подробно отражены результаты, полученные в работе и описаны применявшиеся методики.

Рекомендации по использованию результатов работы и выводов диссертации

Результаты диссертационной работы представляют собой научный вклад, который имеет фундаментальное и прикладное значение. В ходе исследования определили уровни четырех экспрессируемых сплайс-вариантов FoxP3 у здоровых доноров и пациентов с рассеянным склерозом, боковым амиотрофическим склерозом, болезнью Шегрена. В Трег пациентов выявили понижение уровня экспрессии содержащего все функциональные экзоны сплайс-варианта FoxP3 и повышение уровня экспрессии делеционных сплайс-вариантов по сравнению с клетками здоровых доноров. Кроме того, наблюдали понижение количества Трег в периферической крови у пациентов. В ходе работы удалось разработать подход по модуляции альтернативного сплайсинга пре-мРНК FoxP3 с использованием переключающих сплайсинг олигонуклеотидов, в результате применения которого были получены Трег, селективно экспрессирующие каждый из четырех сплайс-вариантов FoxP3. Описано определение пролиферативной и супрессорной активности у полученных клеток, среди которых Трег с полноразмерным сплайс-вариантом FoxP3 обладали наилучшей активностью. Выводы диссертационной работы углубляют понимание о роли индивидуальных сплайс-вариантов FoxP3 в реализации Трег своих биологических функций. Предложенный подход, позволяющий увеличить пролиферативную и супрессорную активность Трег, открывает новые перспективы для разработки регенеративной клеточной терапии.

Материалы диссертации могут найти широкое применение в образовательных программах, направленных на подготовку специалистов в областях молекулярной и клеточной биологии, иммунологии и биомедицинских исследований. Научные, медицинские и учебные учреждения, такие как Российский центр неврологии и нейронаук, Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой, Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова РАН и ГНЦ Институт иммунологии и аллергологии ФМБА России, а также другие ведущие научные и клинические организации могут использовать эти материалы для проведения передовых исследований и подготовки будущих специалистов.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Блиновой Варвары Глебовны имеет классическую структуру, соответствующую требованиям к научным исследованиям. Работа состоит из следующих последовательно представленных частей: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список литературы, благодарности и приложение.

Во введении изложена актуальность и проблематика темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, обоснованы научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Автор подчеркивает необходимость изучения влияния индивидуальных сплайс-вариантов FoxP3 на регуляторные Т-клетки.

Глава 1 посвящена обзору литературы. В данном разделе представлен подробный анализ современных научных данных по теме исследования. Первая часть обзора посвящена рассмотрению биологии регуляторных Т-клеток, в частности, их иммунофенотипу, дифференцировке и функционированию. Далее повествуется о FoxP3 как об основном белке Трег. В следующей части рассмотрено понятие альтернативного сплайсинга и перспективы использования переключающих сплайсинг олигонуклеотидов для его модуляции. Большое внимание уделено описанию сплайс-вариантов FoxP3 и анализу информации о роли белковых форм сплайс-вариантов FoxP3 в функционировании Трег. В заключительной части обзора представлены сведения о роли регуляторных Т-клеток в патогенезе аутоиммунных заболеваний, представлены подходы к терапии на основе Трег с описанием преимуществ и недостатков каждого из них. Отдельно подчеркнуты перспективы рассмотрения АС пре-мРНК FoxP3 в качестве мишени для воздействия в терапевтических целях. Глава демонстрирует глубокое понимание автором изучаемой области и является теоретической основой для дальнейшего исследования.

Глава 2 посвящена описанию материалов и методов, использованных в работе. Автор приводит протоколы выделения регуляторных Т-клеток из периферической крови испытуемых, индукции экспрессии индивидуальных сплайс-вариантов FoxP3, оценки пролиферативной и супрессорной активности Трег, оценки экспрессии маркеров и супрессорных молекул. Методологическая часть работы изложена четко и подробно, что позволяет воспроизвести эксперименты.

В главе 3 подробно представлены результаты исследования. Большое внимание уделено описанию подбора размера и комбинации переключающих сплайсинг олигонуклеотидов для достижения поставленной задачи – индукции экспрессии индивидуальных сплайс-вариантов FoxP3. Подробно описано влияние индивидуальных сплайс-вариантов на иммунофенотип Трег, способность данных клеток к пролиферации и к реализации супрессорного действия.

Глава 4 посвящена обсуждению полученных результатов. Автор детально обсуждает полученные данные, связывая их с литературными источниками.

В заключении подведены итоги исследования и обозначены перспективы дальнейшего изучения. Автор подчеркивает значимость полученных результатов для разработки новых терапевтических подходов. Выводы отражают основные результаты работы, соответствуют поставленным задачам и подтверждают достижение цели исследования.

Список использованной литературы включает в себя 172 работы, в том числе новейшие в данной области исследования публикации.

Дополнительно работа включает «Список сокращений», что повышает доступность для читателей.

По работе имеется ряд вопросов и замечаний.

Вопросы и замечания по диссертационной работе

1. Основной стратегией влияния на альтернативный сплайсинг выбраны антисенс-олигонуклеотиды, комплементарные участкам связывания белков-регуляторов сплайсинга. Не лучше ли было бы подобрать АСО на сами участки сплайсинга?
2. Для анализа эффективности синтеза различных форм белка FoxP3 использовали антитела, узнающие все изоформы, а также антитела, специфичные к эпитопу, закодированному во втором экзоне. Интересно, насколько отличаются электрофоретические подвижности протеоформ FoxP3, соответствующих пропуску экзона 2 и 7? Можно ли определять соотношение форм по соотношению интенсивности белковых зон FoxP3 разной электрофоретической подвижности?
3. FoxP3 это транскрипционный фактор. Было бы правильным сравнить транскриптомы Трег клеток с экспрессией различных изоформ FoxP3.

4. Интересно, что именно приводит к дифференциальному использованию участков сплайсинга пре-мРНК FoxP3 у пациентов с рассеянным склерозом, боковым амиотрофическим склерозом и болезнью Шегрена? Было бы интересно оценить уровень экспрессии регуляторов сплайсинга, влияющим на АС FoxP3 у пациентов.

Указанные вопросы и замечания не являются принципиальными, не изменяют суть работы, не снижают научной значимости исследования, а общая оценка диссертационной работы Блиновой В.Г. остается превосходной.

Заключение

Диссертационная работа Блиновой Варвары Глебовны «Пролиферативная и супрессорная активность регуляторных Т-клеток человека с селективной экспрессией сплайс-вариантов FoxP3» представляет собой завершенное научное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842 (в ред. с последующими изменениями). Автор диссертации, Блинова Варвара Глебовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия».

Отзыв обсужден и одобрен на заседании межлабораторного семинара отделов функциональной геномики и структуры и функции РНК НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ протокол №1 от 23 декабря 2025 г.

ФИО/должность/принадлежность/ученая степень/

Петр Владимирович Сергиев, и.о. директора НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, член-корреспондент РАН, д.х.н., профессор

Телефон: +7 (495) 939-53-59

Электронная почта: petya@genebee.msu.ru

Сайт: <https://www.belozersky.msu.ru/>

Печать организации

