

**Заключение диссертационного совета 24.1.172.01, созданного на базе
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени
В.Н. Ореховича», по диссертации на соискание ученой степени
кандидата наук**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 26 февраля 2026 г. № 2

О присуждении Блиновой Варваре Глебовне, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Пролиферативная и супрессорная активность регуляторных Т-клеток человека с селективной экспрессией сплайс-вариантов FoxP3» по специальности 1.5.4. Биохимия принята к защите 18 декабря 2025, протокол № 8, диссертационным советом 24.1.172.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, созданного Приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г. с внесением изменений Приказом Минобрнауки России № № 561/нк от 03 июня 2021 г. и Приказом Минобрнауки России № 1959/нк от 12 октября 2023 г.

Соискатель Блинова Варвара Глебовна, 2002 года рождения.

В 2024 году соискатель окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования (ФГАОУ ВО) «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы». Работает младшим научным сотрудником в лаборатории медицинской биотехнологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Диссертация выполнена в лаборатории медицинской биотехнологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Научный руководитель – доктор биологических наук, доцент Жданов Дмитрий Дмитриевич, заведующий лабораторией медицинской биотехнологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Официальные оппоненты:

Киселевский Михаил Валентинович, доктор медицинских наук, профессор Федерального государственного бюджетного учреждения (ФГБУ) "Научный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России, заведующий лабораторией клеточного иммунитета;

Рубцов Юрий Петрович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки (ФГБУН) Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, руководитель лаборатории молекулярной вирусологии;

ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования (ФГБОУ ВО) Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского), гор. Москва, в своём положительном заключении, подписанном доктором химических наук, членом-корреспондентом РАН, и.о. директора Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Сергиевым Петром Владимировичем, поставила вопросы, касающиеся выбора антисенсолигонуклеотидов в стратегии влияния на альтернативный сплайсинг; электрофоретической подвижности протеоформ FoxP3, соответствующих пропуску экзонов 2 и 7; причин дифференциального использования участков сплайсинга пре-мРНК FoxP3 у пациентов с рассеянным склерозом, боковым амиотрофическим склерозом и болезнью Шенгрна, в связи с чем было бы интересно оценить уровень экспрессии регуляторов сплайсинга, влияющих на альтернативный

сплайсинг при этих заболеваниях. Отмечается также, что поскольку FoxP3 является транскрипционным фактором, то правильным было бы сравнить транскриптомы Трег клеток с экспрессией разных изоформ FoxP3. Указанные вопросы и замечания не являются принципиальными, не изменяют суть работы, не снижают научную значимость исследования и превосходную оценку работы.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 12 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 6.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Zhdanov D.D., Gladilina Y.A., Blinova V.G., Abramova A.A., Shishparenok A.N., Eliseeva D.D. Induction of FoxP3 Pre-mRNA Alternative Splicing to Enhance the Suppressive Activity of Regulatory T Cells from Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients // *Biomedicines*. – 2024. – V. 12(5). – P. 1022. (Scopus, WoS, IF=4.7). Объем условных печатных листов – 2,31.

В публикации показано снижение уровня мРНК полноразмерного сплайс-варианта FoxP3 в регуляторных Т-клетках (Трег) периферической крови пациентов с боковым амиотрофическим склерозом (БАС) по сравнению со здоровыми донорами. Представлена стратегия по индукции селективной экспрессии полноразмерного сплайс-варианта FoxP3 в Трег пациентов с БАС с применением переключающих сплайсинг олигонуклеотидов. Использование данного подхода позволило увеличить пролиферативную активность Трег пациентов с БАС примерно в 2 раза и супрессорную активность в 4 раза. Соискатель принимала непосредственное участие в планировании экспериментов, выделении Трег из периферической крови, анализе уровня мРНК количественной ПЦР (включая выделение РНК и обратную транскрипцию), трансфекции клеток олигонуклеотидами, определении белка FoxP3 методом вестерн-блоттинга, проточной цитометрии, оценке пролиферативной и супрессорной активности,

определении концентрации цитокинов методом Bio-Plex, подготовке публикации.

2. Blinova V.G., Gladilina Y.A., Abramova A.A., Eliseeva D.D., Vtorushina V.V., Shishparenok A.N., Zhdanov D.D. Modulation of Suppressive Activity and Proliferation of Human Regulatory T Cells by Splice-Switching Oligonucleotides Targeting FoxP3 Pre-mRNA // *Cells*. – 2024. – V. 13(1). – P. 77. (Scopus, WoS, IF=6.0). Объем условных печатных листов – 3,003.

В публикации показано снижение уровня мРНК полноразмерного сплайс-варианта FoxP3 в Трег периферической крови пациентов с рассеянным склерозом по сравнению со здоровыми донорами. Соискатель принимала непосредственное участие в планировании экспериментов, выделении Трег из периферической крови, анализе уровня мРНК количественной ПЦР (включая выделение РНК и обратную транскрипцию), трансфекции клеток олигонуклеотидами, определении белка FoxP3 методом вестерн-блоттинга, проточной цитометрии, оценке пролиферативной и супрессорной активности, определении концентрации цитокинов методом Bio-Plex, подготовке публикации.

3. Blinova V.G., Vasilyev V.I., Rodionova E.B., Zhdanov D.D. The Role of Regulatory T Cells in the Onset and Progression of Primary Sjögren's Syndrome // *Cells*. – 2023. – V. 12(10). – P. 1359. (Scopus, WoS, IF=7.666). Объем условных печатных листов – 2,772.

Представлены данные по вовлеченности различных субпопуляций Трег в патогенез болезни Шегрена. Представлены результаты по количественному содержанию Трег в периферической крови и в малых слюнных железах пациентов в зависимости от стадии заболевания. Соискатель принимала непосредственное участие в оценке количественного содержания Трег у пациентов в биопсийном материале, подготовке публикации.

4. Блинова В. Г., Гладилина Ю. А., Елисеева Д.Д., Лобаева Т.А., Жданов, Д.Д. Повышенная супрессорная активность трансформированных ex vivo регуляторных Т-клеток в сравнении с нестимулированными клетками того

же донора // Биомедицинская химия. – 2022. – Т. 68(1). – С. 55-67. К1 ВАК. Объем условных печатных листов – 1,5015.

В работе показано, что по сравнению с выделенными из периферической крови Трег, выращенные *ex vivo* клетки на 90-95% имеют фенотип CD4+CD25+FoxP3+CD127low Трег и повышенную экспрессию ключевых генов транскрипции FoxP3 и Helios. Соискатель принимала непосредственное участие в выделении клеток из периферической крови, анализе уровня мРНК количественной ПЦР (включая выделение РНК и обратную транскрипцию), иммунофенотипировании Трег, оценке пролиферативной и супрессорной активности, определении концентрации цитокинов, подготовке публикации.

5. Blinova V.G., Novachly N.S., Gippius, S.N., Hilal A., Gladilina Y.A., Eliseeva D.D., Zhdanov D.D. Phenotypical and Functional Characteristics of Human Regulatory T Cells during Ex Vivo Maturation from CD4+ T Lymphocytes // *Applied Sciences*. – 2021. – V. 11(3). – P. 5776. (Scopus, WoS, IF=2.679). Объем условных печатных листов – 2,079.

В работе показано, что после 7 дней культивирования полученные клетки обладали фенотипом Трег и повышенной супрессорной активностью. Экспрессия общей мРНК FoxP3 возрастала по мере увеличения времени культивирования. Экспрессия полноразмерного сплайс-варианта FoxP3 значительно повысилась к 7 и 9 дню культивирования. Представленные результаты могут быть учтены при разработке регенеративной клеточной терапии на основе Трег. Соискатель принимала непосредственное участие в выделении Трег из периферической крови, иммунофенотипировании Трег, оценке пролиферативной и супрессорной активности, подготовке публикации.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

официального оппонента Рубцова Юрия Петровича, доктора биологических наук, главного научного сотрудника ФГБУН Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и

Ю.А. Овчинникова РАН, руководителя лаборатории молекулярной вирусологии, в котором имеется ряд вопросов и замечаний. Указывается, что автором на стр.7 использован термин «пре-матричная РНК», хотя принято пре-мРНК называть предшественником матричной РНК; вместо термина «родственный антиген» (стр.15) лучше использовать термин специфический антиген, что соответствует смыслу; считать указанный в таблице 2 белок Helios маркером можно с большими оговорками, поскольку это внутриклеточный белок, который является характеристическим для определенной суб-популяции геном. В работе встречаются отдельные неудачные выражения, опечатки, ошибки в пунктуации, однако они не портят общего хорошего впечатления от работы. Данные комментарии, замечания и вопросы ни в коей мере не отменяют достоинств работы и выполнившего ее автора;

официального оппонента Киселевского Михаила Валентиновича, доктора медицинских наук, профессора ФГБУ "Научный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России, заведующего лабораторией клеточного иммунитета, в котором отмечается, что целесообразно было бы оценить влияние Трег на киллерные субпопуляции лимфоцитов, а не смешанную культуру лимфоцитов. Указаны также замечания по оформлению рисунков 18, 33 и 34, включая неудачное название рисунка 34 и необходимость его описания, поскольку не ясно как оценивали процент угнетения пролиферации при наличии нескольких пиков интенсивности свечения CFSE+ клеток. Высказанные замечания и комментарии имеют рекомендательный характер и не оказывают влияния на общую высокую оценку и не снижают значимость выполненной работы.

В положительном отзыве на автореферат кандидата медицинских наук, старшего научного сотрудника лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ

«Российский научный центр хирургии имени академика А.В. Петровского»
Маркина Александра Михайловича замечаний нет;

В положительном отзыве на автореферат доктора биологических наук, заведующей кафедрой биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) государственный университет» Киямовой Рамзии Галлямовны отмечается отсутствие в тексте автореферата обоснования выбора индивидуальных цитокинов для детекции цитокинового профиля Трег и интерпретации результатов, наличие излишка аббревиатур, ряд опечаток, но указанные замечания не умаляют достоинств сделанной работы.

В положительном отзыве на автореферат доктора биологических наук, заведующего лабораторией анализа межмолекулярных взаимодействий Отдела молекулярной биологии, генетики и фундаментальной медицины ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Соколова Алексея Викторовича имеются два замечания. Отмечается, что было бы целесообразно указать причину определения активности клеток в течение четырех дней после трансфекции олигонуклеотидами, переключающими сплайсинг, а не на более поздних сроках; было бы полезно оценить специфичность переключающих сплайсинг олигонуклеотидов в дозозависимых экспериментах на молекулярном и функциональном уровнях. Указанные замечания не умаляют значимость и общую высокую оценку работы.

В положительном отзыве на автореферат доктора медицинских наук, заведующего лабораторией молекулярной биологии Отдела молекулярных механизмов наследственных нарушений метаболизма ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» Шестопалова Александра Вячеславовича указывается, что в разделе «Материалы и методы исследования» отсутствует стратификация групп пациентов по стадиям заболевания; в работе не приведен анализ межиндивидуальной вариабельности профиля сплайс-вариантов внутри групп пациентов.

Отмеченные замечания не умаляют значимость данной работы, которая представляет законченное научное исследование.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, доктор биологических наук Рубцов Юрий Петрович – один из ведущих специалистов в области молекулярных механизмов взаимодействия между клетками иммунной системы, доктор медицинских наук Киселевский Михаил Валентинович - ведущий специалист в области клеточного иммунитета, имеющий, в частности, большой опыт работы с Т-регуляторными клетками и исследовавший их роль при онкологических и аутоиммунных заболеваниях.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского) - один из ведущих научных центров, занимающийся фундаментальными и прикладными разработками в области исследований, имеющих самое непосредственное отношение к проблематике рассматриваемой диссертационной работы, а именно к области клеточных и молекулярных основ иммунитета и его нарушений.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- впервые определены уровни мРНК сплайс-вариантов FoxP3 в регуляторных Т-клетках периферической крови здоровых доноров и пациентов с аутоиммунными заболеваниями, такими как рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз и болезнь Шегрена;
- впервые разработан и применен подход по подбору оптимального размера и комбинации переключающих сплайсинг олигонуклеотидов, с помощью которых осуществлена модуляция альтернативного сплайсинга пре-мРНК FoxP3 и получены регуляторные Т-клетки с селективной экспрессией индивидуальных сплайс-вариантов;

- впервые показано, что наибольшей функциональной и пролиферативной активностью обладают регуляторные Т-клетки, экспрессирующие полноразмерный сплайс-вариант гена FoxP3.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные результаты вносят ценный вклад в понимание тонкой регуляции иммунного гомеостаза и позволяют сформировать более глубокое представление о патогенезе таких аутоиммунных заболеваний как рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз и болезнь Шегрена.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что представленный в работе подход, позволяющий получить регуляторные Т-клетки с увеличенной пролиферативной и супрессорной активностью, при дальнейшем его развитии может быть применен при создании инновационного метода клеточной терапии, направленной на восстановление иммунологической толерантности при аутоиммунных состояниях и в трансплантологии.

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается тем, что диссертантом использовались современные экспериментальные методы исследования и статистическая обработка данных. Работа выполнена с достаточным количеством технических повторов и независимых контрольных измерений. Результаты работы опубликованы в международных журналах с серьезным уровнем рецензирования поступающих в редакционный портфель статей.

Личный вклад соискателя состоит в личном участии во всех этапах планирования работы, ее осуществления и представления в виде диссертации, а именно в изучении литературы по теме диссертации, личном участии во всех экспериментах, в анализе и обобщении результатов, в самостоятельном написании диссертации.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

