

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.230.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ
СМИРНОВА ИЛЬИ ВАЛЕРЬЕВИЧА НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 31 марта 2017 г. № 219/398

О присуждении **СМИРНОВУ ИЛЬЕ ВАЛЕРЬЕВИЧУ** (Россия) ученой степени
кандидата биологических наук

Диссертация **«СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЛИНУ, МАРКЕРУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ЭНДОТЕЛИЯ»** по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»

принята к защите 23 декабря 2016 г., протокол №215/394 диссертационным советом Д 002.230.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской Академии наук (ИНЦ РАН), 194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4. Утвержден приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11 апреля декабря 2012 г.

Соискатель Смирнов Илья Валерьевич 1988 года рождения, в 2012 году соискатель окончил биолого-почвенный факультет Санкт-Петербургского государственного университета по специальности «Иммунология» с присуждением квалификации магистра биологии. С 6.11.2012 по 5.11.2015 проходил очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии» Российской академии наук. Диссертация выполнена в порядке прохождения аспирантуры.

Работает научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации с декабря 2012 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии» Российской Академии наук и Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители – доктор медицинских наук, профессор (14.00.36 – «Аллергология и иммунология») Климович Владимир Борисович, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория гибридной технологий, руководитель лаборатории; Никольский Николай Николаевич – академик РАН, доктор биологических наук, профессор (03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»), Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии» Российской Академии наук, руководитель отдела внутриклеточной сигнализации и транспорта.

Официальные оппоненты:

1. Киселева Екатерина Прохоровна, доктор медицинских наук (14.00.36 – «Аллергология и иммунология»), руководитель лаборатории иммунорегуляции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»;

2. Смирнова Татьяна Дмитриевна, кандидат биологических наук (03.02.02 – «Вирусология»), ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных культур Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, в своем отзыве (заключение составлено Ириной Александровной Балдуевой, доктором медицинских наук (14.01.12 – «Онкология»), заведующей отделом онкоиммунологии) указала, что диссертационная работа является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной и актуальной задачи – создания и характеристики нового семейства моноклональных антител, распознающих как мембранную, так и растворимую форму эндоглина; по совокупности критериев работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения ВАК МО РФ о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по

специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук; и дала положительный отзыв на диссертацию.

Соискатель имеет 10 опубликованных работ по теме диссертации, из них 2 статьи (объемом 1,25 печатных листов) в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов кандидатских диссертаций, 1 статья (объемом 0,3 печатного листа) в рецензируемом иностранном журнале, 2 заявки на изобретения (выданы патенты № 2604192, опубл. 14.11.2016 и № 2607029, опубл. 10.01.2017) и 5 тезисов.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Смирнов И.В.**, Грязева И.В., Самойлович М.П., Терехина Л.А., Пиневиц А.А., Крылова А.А., Крутецкая И.Ю., Никольский Н.Н., Климович В.Б. Панель моноклональных антител против эндоглина человека: получение и характеристика, Цитология. 2015, 57(7): 499–508.

В рамках этой статьи изложены процедуры создания рекомбинантных молекул эндоглина, иммунизации лабораторных мышей и оценки их иммунного ответа, описан протокол создания гибридом-продуцентов моноклональных антител к эндоглину, приведены основные иммунохимические характеристики полученных моноклональных антител и описаны области их применения.

2. **Смирнов И.В.**, Грязева И.В., Самойлович М.П., Климович В.Б. Эндоглин (CD105) – мишень визуализации и анти-ангиогенной терапии злокачественных опухолей, Вопросы онкологии. 2015, 61(6): 898–907.

Обзорная статья посвящена обобщению существующих представлений о биологии эндоглина и определению областей применения моноклональных антител к этому антигену. Основной акцент сделан на использование этих реагентов в медицинской диагностике для визуализации сосудистых сетей опухолевых новообразований солидной природы.

3. **Smirnov I.V.**, Gryazeva I.V., Samoylovich M.P., Terekhina L.A., Pinevich A.A., Shaskova O.A., Krutetskaia I.Yu., Sokolov D.I., Selkov S.A., Nikolskiy N.N., Klimovich V.B. Different pairs of monoclonal antibodies detect variable amounts of soluble endoglin in human blood plasma, Immunochemistry & Immunopathology. 2016, 2(121). doi: 10.4172/2469-9756.1000121.

В статье приведены данные о взаимном расположении эпитопов, распознаваемых моноклональными антителами к эндоглину, исследованы способности различных

двухцентровых иммуноферментных систем выявлять растворимый эндоглин в плазме крови человека, с помощью метода вестрн-блота показана молекулярная гетерогенность антигена, циркулирующего в крови.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Научного сотрудника Научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» к.б.н. **Александры Андреевны Айзенштадт**. Отзыв положительный, замечаний нет.
2. Заведующего кафедрой фундаментальной медицины «Школы биомедицины» Дальневосточного федерального университета д.б.н. **Александра Витальевича Полевщикова**. Отзыв положительный, замечаний нет.
3. Старшего преподавателя кафедры цитологии и гистологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета к.б.н. **Татьяны Григорьевны Шапошниковой**. Отзыв положительный, без замечаний.
4. Научного сотрудника лаборатории молекулярной кардиологии и генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» к.б.н. **Александра Александровича Худякова**. Отзыв положительный, без замечаний.

В дискуссии принимали участие:

д.б.н., проф. Е.С. Корнилова, член Совета,
д.б.н., С.Ю. Хайтлина, член Совета,
д.б.н. М.Г. Мартынова, член Совета,
д.б.н., проф. Я.Ю. Комиссарчик, главный научный сотрудник Института цитологии РАН,
д.б.н. Б.А. Маргулис, заведующий Отделом клеточных культур Института цитологии РАН,
д.б.н., проф. С.Н. Борхенсиус, заместитель председателя Диссертационного Совета Института цитологии РАН.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их широким опытом и высоким авторитетом в области биологии клетки и иммунологии,

гибридомной технологии, методов ведения клеточных культур, экспериментальной онкологии и биологии клеток эндотелия кровеносных сосудов, независимостью их экспертной оценки и отсутствием конфликта интересов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана серия клеточных штаммов гибридом-продуцентов моноклональных антител к эндоглину (CD105) человека и основанная на них новая двухцентровая иммуноферментная система для определения содержания растворимой формы антигена, которая по своим качественным характеристикам превосходит зарубежные аналоги;

предложена гипотеза, объясняющая существенные различия в оценках концентрации растворимого эндоглина с помощью различных иммуноферментных систем;

доказана антигенная специфичность созданных моноклональных антител.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана достоверность данных, свидетельствующих о высокой концентрации растворимой формы эндоглина в плазме крови здоровых доноров и пациенток с преэклампсией;

применительно к проблематике диссертации результативно использован оригинальный подход к иммунизации и оценке иммунного ответа лабораторных мышей, стандартный комплекс методик по созданию и клонированию гибридомных клеток, широкий спектр иммунохимических методов характеристики моноклональных антител;

изложены существенные характеристики реагентов, входящих в состав созданной панели моноклональных антител;

раскрыта гетерогенность молекул растворимого эндоглина, выделенных из плазмы крови и ростовых сред клеток сосудистого эндотелия человека;

изучены возможности использования созданных реагентов для фундаментальных исследований в области биологии клетки.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены реагенты, позволяющие проводить специфичное выявление эндоглина методами иммуногистохимии, проточной цитофлуориметрии, иммунофлуоресценции и иммуноферментного анализа; два штамма гибридом-продуцентов моноклональных антитела стали объектом авторского права соискателя;

создана система практических рекомендаций к использованию разработанной автором двухцентровой системы иммуноферментного анализа для количественного определения растворимого эндоглина в плазме крови;

представлены области практического использования созданных моноклональных антител к эндоглину.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты, представленные в диссертации, получены на сертифицированном оборудовании и сравнены с международными стандартами; воспроизводимость результатов продемонстрирована с помощью методик, основанных на различных принципах, так и с использованием коммерческих аналогов; достоверность экспериментальных данных подтверждена с помощью адекватных методов статистической обработки данных;

теория построена на экспериментально проверяемых данных и частично подтверждена данными литературы;

идея базируется на анализе собственных результатов и обобщении данных литературы; использовано сравнение авторских данных и существующих теоретических представлений по теме исследования;

установлено, что данные автора согласуются с результатами, представленными в независимых источниках;

использованы современные подходы к созданию рекомбинантных белковых молекул, выявлению специфичных антител и антигенов в жидкостях, детекции экспрессии антигена на мембранах живых клеток и на гистологических срезах.

Личный вклад соискателя состоит в:

непосредственном вовлечении в планирование и проведение экспериментов, сборе и статистической обработке данных, анализе и интерпретации полученных результатов. Соискатель принимал участие в апробации результатов исследований на отечественных и международных конференциях, в подготовке и написании научных статей и тезисов по теме диссертации.

Диссертация, посвященная созданию и характеристике моноклональных антител к эндоглину, маркеру мезенхимных стволовых клеток и эндотелия, является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием в области клеточной биологии, которое содержит решение научной задачи, имеющей большое значение для разработки диагностических систем и понимания механизмов нормального и опухолевого ангиогенеза. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных И.В. Смирновым работах, в которых изложены основные научные

результаты диссертации. Диссертационная работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года) по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

На заседании 31 марта 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Смирнову Илье Валерьевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 10 докторов наук по специальности диссертации, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали:

«ЗА» 18, «ПРОТИВ» нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель заседания

Зам. Председателя

Диссертационного совета Д 002.230.01

на базе ИНЦ РАН,

доктор биологических наук, профессор



С.Н. Борхсениус

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 002.230.01

на базе ИНЦ РАН,

кандидат биологических наук

Е.В. Каминская

03 апреля 2017 г.