

Семинары по иммуноинформатике

Антон С. Смирнов

October 20, 2025

Оглавление

| | |
|----------------------------------------------------------|-----------|
| Предисловие | 1 |
| Организация обучения | 3 |
| Цели и задачи | 3 |
| Ожидаемые результаты обучения | 3 |
| Приобретаемые знания | 3 |
| Приобретаемые навыки | 4 |
| Система оценивания | 4 |
| Учебные материалы | 4 |
| Основная литература | 4 |
| Лекции | 7 |
| I Медицина и иммуноинформатика | 9 |
| 1 Интерпретация результатов NGS | 11 |
| 1.1 Предварительная подготовка | 11 |
| 1.2 Пример заключения | 11 |
| 1.3 Пациент №1 (разминка) | 13 |
| 1.4 Пациент №2 | 13 |
| 1.5 Пациент №3 | 15 |
| 1.6 Пациент №4 (на дом) | 16 |
| 2 HLA-типирование | 19 |
| 2.1 Генетические особенности | 19 |
| 2.2 Биоинформатические особенности | 19 |
| II Анализ иммунных репертуаров | 21 |
| 3 Анализ данных с помощью cellranger | 23 |
| 4 Библиотека Seurat | 25 |
| III Компьютерное конструирование вакцин и антител | 27 |
| 5 Проектирование мультиэпитопной вакцины | 29 |
| 6 Защита проектов | 31 |
| 7 Моделирование трехмерной структуры антитела | 33 |
| 8 Моделирование взаимодействия антитело-антиген | 35 |

9 Зачёт**37****References****39**

Предисловие

Материалы для семинаров для нового курса "Иммуноинформатика" для студентов 5 курса ФББ МГУ. Этот предмет включен в программу по настоятельной просьбе активных и мотивированных студентов факультета. Данный курс является краткой выжимкой курса иммуноинформатики, читаемого биологам-магистрам медико-биологического факультета Пироговского университета и рассчитан на 24 академических часа. Вследствие малого количества аудиторных часов, я рассчитываю на вашу активную самостоятельную работу. Предмет рассчитан на три модуля:

- Иммуноинформатика в медицине;
- Анализ данных иммуносеквенирования
- Компьютерное конструирование иммунопрепаратов.

Подглавы пособия соответствуют темам семинара, а главы - разделам, следовательно, 1 глава - 1 семинар. Ссылки на презентации лекций будут приложены отдельно к описаниям разделов в соответствующих главах.

Организация обучения

Цели и задачи

Цель курса – познакомить слушателя с источниками данных, рабочими инструментами в иммуноинформатике и принципами их работы. В курсе рассматриваются экспериментальные методы, применяемые в фундаментальной и клинической иммунологии вместе с методами анализа результатов экспериментов. Разбираются технические аспекты применения вычислительных методов. Особое внимание уделено вопросам компьютерного конструирования вакцин.

Ожидаемые результаты обучения

После изучения курса слушатель получит представление о применении методов биоинформатики в иммунологии и используемых и информационных ресурсах. Слушатель научится применять продвинутое технические инструменты для решения как иммуноинформатических, так и общих биоинформатических задач.

Приобретаемые знания

- Знание медицинской классификации генетических вариантов, алгоритма вынесения заключения по результатам высокопроизводительного секвенирования.
- Знание об алгоритмах, используемых в картировании прочтений локуса HLA.
- Понимание принципов работы программ-предсказателей
- Понимание особенностей открытых на момент преподавания курса иммунологических данных
- Знание о принципах и этапах компьютерного конструирования вакцин и иммунологических препаратов
- Понимание принципов анализа результатов single-cell RNA секвенирования.
- Понимание принципов моделирования трехмерных структур.

Приобретаемые навыки

- Навыки работы с общедоступными биоинформатическими базами данных
- Навыки работы с интерфейсом командной строки, работы в операционной системе Linux
- Навыки написания программ на языке программирования Python, R для решения иммуноинформатических задач
- Умение применять иммуноинформатические онлайн-инструменты, интерпретировать их результаты
- Способность решать иммуноинформатические задачи как прикладного (медицинского), так и фундаментального характера.

Система оценивания

Дисциплина предполагает получение «зачета». Для «зачета» необходимо достичь порогового показателя в 60% по каждому виду деятельности:

| Виды деятельности | Итого, баллы | Пороговое значение, баллы | Комментарии |
|-----------------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------------|
| Работа на очных занятиях | 70 | 42 | 7 занятий по 10 баллов |
| Индивидуальная домашняя работа | 40 | 24 | 4 домашних задания по 10 баллов |
| Проект по конструированию вакцины | 20 | 12 | |
| Итоговое устное собеседование | 30 | 18 | |
| Итого | 160 | 96 | |

Учебные материалы

Основная литература

1. Мерфи, К. Иммунобиология по Джанвэю / К. Мерфи, К. Уивер; пер. с англ.; под ред. Г.А. Игнатъевой, О.А. Свитич, И.Н. Дьякова. - М.: Логосфера, 2020. - 1184 с. : ил. : 21,3 см. ISBN 978-5-98657-070-9
2. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) <https://ngs.med->

gen.ru/mgngs19/%D0%A0%D1%83%D0%BA%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%BE%20NGS%202019%20%D0%B2%D0%B5%D1%80.2.pdf

3. Namrata Tomar. Immunoinformatics. Springer Protocols 3 ed., 2020 DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0389-5>
4. Pedro A. Reche. Computational Vaccine Design 1 ed., 2023 DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3239-0>
5. Курс «Анализ транскриптомных данных», Сергей Исаев. <https://github.com/serjisa/transcriptomics>.msu

Лекции

1. Интерпретация результатов NGS. HLA-типирование.

Part I

Медицина и иммуноинформатика

Chapter 1

Интерпретация результатов NGS

1.1 Предварительная подготовка

Вам потребуется для работы:

1. Интернет - для доступа к статьям, базам данных и UCSC Genome Browser
2. Геномный браузер igv. Скачать можно по ссылке

О Broad Institute

Поскольку британское правительство - нехорошие люди, институт блокирует российские IP-адреса. Проблема легко решается самым простым VPN. С помощью VPN можно скачать самую последнюю версию IGV. Также могут возникнуть проблемы с загрузкой референсного генома, т.к. igv осуществляет их загрузку с серверов Amazon. Чтобы решить эту проблему, добавьте в скрипт запуска igv-launcher.bat (он лежит в папке, куда установили igv) опции, указанные ниже.

```
start %JAVA_CMD% ... --genomeServerURL=https://tools.epigenetic.ru/igv/genomes.txt --genome=https://tools.epigenetic.ru/igv/genomes.txt
```

3. DB Browser for SQLite

1.2 Пример заключения

Пример

1. Паспортная информация о документе
 - Название организации, контактная информация
 - Название лаборатории:

- Карта:
- Номер исследования:
- Фамилия:
- Дата рождения:
- Регион:
- Направившее ЛПУ:
- Направивший врач:
- Метод исследования: Массовое параллельное секвенирование; биоинформатический анализ ДНК
- Материал: Жидкая кровь с ЭДТА, не подвергавшаяся замораживанию
- Направляющий диагноз:
- Пункт преискуранта:

2. Находки

Table 1.1: Патогенные варианты нуклеотидной последовательности, являющиеся вероятной причиной заболевания

| Ген | Положение (hg38) | Генотип | Экзон/интрон | Положение в кДНК | Эффект | Частота аллеля* | Глубина Транскрипта |
|------|------------------|---------|--------------|------------------|--------|-----------------|---------------------|
| CD81 | chr11:23955250 | G>A | 5 | c.459+5G>A p.? | | 0.00001972 | NM_004356.3 8 |

Table 1.2: Вероятно патогенные варианты нуклеотидной последовательности, являющиеся возможной причиной заболевания

| Ген | Положение (hg38) | Генотип | Экзон/интрон | Положение в кДНК | Эффект | Частота аллеля* | Глубина Транскрипта |
|-----|------------------|---------|--------------|------------------|---------------|-----------------|---------------------|
| IVD | chr15:4041544 | C>T | 9 | c.932C>T | p.(Ala311Val) | 0.00072930 | NM_002225.4 10 |

Table 1.3: Варианты нуклеотидной последовательности неопределенного значения, имеющие возможное отношение к фенотипу

| Ген | Положение (hg38) | Генотип | Экзон/интрон | Положение в кДНК | Эффект | Частота аллеля* | Глубина Транскрипта |
|-----|------------------|---------|--------------|------------------|--------|-----------------|---------------------|
| | | | | | | | |

3. Интерпретация

4. Описание методики
5. Сведения о качестве исследования
6. Литература
7. Подписи специалиста и заведующего лабораторией

i Волшебные фразы

1. Данные секвенирования могут быть предоставлены по запросу лечащего врача.
2. Все варианты, указанные в заключении, необходимо подтверждать методом прямого секвенирования по Сенгеру.
3. Клиническое заключение по результатам данного исследования может быть дано только врачом-генетиком.
4. Результат анализа может быть интерпретирован только врачом.

1.3 Пациент №1 (разминка)

Данные + выписки

1.4 Пациент №2

Новорожденный мальчик с неонатального скрининга

Данные. Скрины из выписок представлены ниже

Анамнез жизни: Ребенок от 4 беременности (1 беременность - 2012 г., срочные роды; 2 - 2013 г., выкидыш; 3 - 2022 г., выкидыш), 2 самостоятельных родов на сроке 39-40 нед. Течение беременности: на фоне токсикоза в 1-м триместре, варикозного расширения вен, ОРВИ - 13 и 38 нед., ЖДА в 3-м триместре. Вес при рождении 3502 г. Рост 53 см. Закричал сразу. По шкале Апгар 7/9 баллов. К груди приложен сразу. БЦЖ-М, гепатит В - проведено в роддоме, далее медицинский отвод от профилактических прививок. Естественное вскармливание до 2 нед. Перенесенные заболевания: перелом ключицы при родовой травме; гипопаратиреоз.

Семейный анамнез: по онкологическим, гематологическим заболеваниям неотягощен.

Анамнез заболевания: На первом месяце жизни (08.02.23) - повторные эпизоды судорог, госпитализирован в ОРИТ по месту жительства, назначены антиконвульсанты и миоплегическая

терапия, пациент переведен на ИВЛ. По данным ЭЭГ - убедительных данных за истинную эпилептиформную активность нет, лабораторно - снижение ионизированного кальция до 0,8 ммоль/л, снижение паратгормона до 0,3 пг/мл. При исследовании ликвора - незначительное повышение белка (0,5 г/л), в остальном норма. В крови - виремия (ЦМВ до 2300 к/мл), при исследовании ликвора ЦМВ, ЭБВ, ВГЧ6, ВПГ1-2 не детектированы. Пациенту проводилась противосудорожная терапия, комбинированная противомикробная терапия (сульперазон, амикацин, ванкомицин, бисептол, флуконазол, ганцикловир), ВВИГ, коррекция гипокальциемии (препараты кальция вв и per os, оксидевит). На фоне проводимой терапии отмечена стабилизация состояния, пациент экстубирован 21.02.23.

| | Результат | |
|-----------------------------------------------------|-------------|---------------------|
| | % | 10 ⁶ /мл |
| WBC | - | 9,42 |
| Granulocytes | 70,0 | 6,59 |
| Monocytes | 15,0 | 1,41 |
| Lymphocytes | 15,0 | 1,41 |
| | % | кл/мкл |
| T-cells CD3+ Lym (% om Lym) | 0,18 | 3 |
| CD3+CD4+ Lym (% T cells) | 67,0 | 2 |
| T-naïve cells CD4+CD45RA+CD197+ (% om CD4) | 0,0 | 0 |
| T-central memory cells CD4+CD45RA-CD197+ (% om CD4) | 0,0 | 0 |
| Effector memory cells CD4+CD45RA-CD197- (% om CD4) | 0,0 | 0 |
| TEMRA CD4+CD45RA+CD197- (% om CD4) | 0,0 | 0 |
| CD3+CD8+ Lym (% T cells) | 14,0 | 0 |
| T-naïve cells CD8+CD45RA+CD197+ (% om CD8) | 0,0 | 0 |
| T-central memory cells CD8+CD45RA-CD197+ (% om CD8) | 0,0 | 0 |
| Effector memory cells CD8+CD45RA-CD197- (% om CD8) | 0,0 | 0 |
| TEMRA CD8+CD45RA+CD197- (% om CD8) | 0,0 | 0 |
| B-cells CD19+ Lym (% om Lym) | 72,0 | 1017 |
| NK-cells CD3-CD16+CD56+ Lym (% om Lym) | 27,8 | 393 |
| CD56+high NK (% om NK-cells) | 1,0 | 4 |
| T-NK-cells CD3+CD56+ Lym (% om Lym) | 0,0 | 0 |

| | |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Название набора | TK-SMA - Набор реагентов для выделения и количественного определения ДНК TREC, KREC и качественного выявления гомозиготной делеции экзона 7 гена SMN1 методом ПЦР-РВ |
| Амплификатор | ДТ-прайм (ДНК-Технология) |

РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

| | Показатель пробы | Интерпретация | Референсные значения |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| SMN1 | 21,5 | Не обнаружена | менее 25 - не обнаружена |
| TREC | 0 | Патология | менее 100 - патология от 100 до 450 - сомнительный результат более 450 - норма |
| KREC | 2028 | Норма | менее 100 - патология от 100 до 200 - сомнительный результат более 200 - норма |
| <i>Комментарии.</i> <i>Результат лабораторного исследования не является диагнозом.</i> <i>Интерпретация результата проводится врачом с учетом клинических проявлений и данных анамнеза.</i> | | | |

1.5 Пациент №3

Данные

Table 1.4: TREC/KREC

| TREC | KREC | SMN1 |
|---------------|---------------|------|
| 3.1 [2.0-3.5] | 1.1 [2.0-3.5] | N |

Table 1.5: Субпопуляции лимфоцитов

| Показатель | Результат | Ед. изм. |
|-----------------------------|-----------|----------|
| WBC | 8.54 | 10/мл |
| Гранулоциты, % от WBC | 21.0 | % |
| Гранулоциты | 1.79 | 10/мл |
| Моноциты, % от WBC | 11.0 | % |
| MONO# | 0.94 | 10/мл |
| LYM | 5.81 | 10/мл |
| LYMPH% | 68.0 | % |
| T-cells CD3+ Lym | 5052 | кл/мкл |
| CD3 (Т-лимфоциты), % от LYM | 87.0 | % |

| Показатель | Результат | Ед. изм. |
|---------------------------------------------------------------|-----------|----------|
| CD3+CD4 ⁺ (Th cells) (% от CD3) | 63.7 | % |
| CD3+CD4 ⁺ Lym | 3218 | кл/мкл |
| CD45RA+CD197 ⁺ (T-naïve cells) | 2095 | кл/мкл |
| CD45RA+CD197 ⁺ (T-naïve cells) (% от CD4) | 65.1 | % |
| CD45RA-CD197 ⁺ (T-central memory cells) | 933 | кл/мкл |
| CD45RA-CD197 ⁺ (T-central memory cells) (% от CD4) | 29.0 | % |
| CD45RA-CD197 ⁻ (Effector memory cells) | 103 | кл/мкл |
| CD45RA-CD197 ⁻ (Effector memory cells) (% от CD4) | 3.2 | % |
| CD45RA+CD197 ⁻ (TEMRA) | 90 | кл/мкл |
| CD45RA+CD197 ⁻ (TEMRA) (% от CD4) | 2.8 | % |
| CD3+CD8 ⁺ (Tc cells) (% от CD3) | 30.4 | % |
| CD3+CD8 ⁺ Lym | 1536 | кл/мкл |
| CD45RA+CD197 ⁺ (T-naïve cells) | 1193 | кл/мкл |
| CD45RA+CD197 ⁺ (T-naïve cells) (% от CD8) | 77.7 | % |
| CD45RA-CD197 ⁺ (T-central memory cells) | 177 | кл/мкл |
| CD45RA-CD197 ⁺ (T-central memory cells) (% от CD8) | 11.5 | % |
| CD45RA-CD197 ⁻ (Effector memory cells) | 71 | кл/мкл |
| CD45RA-CD197 ⁻ (Effector memory cells) (% от CD8) | 4.6 | % |
| CD45RA+CD197 ⁻ (TEMRA) | 97 | кл/мкл |
| CD45RA+CD197 ⁻ (TEMRA) (% от CD8) | 6.3 | % |
| CD19 ⁺ Lym (B-cells) | 0.3 | % |
| CD19 (B-лимфоциты), % от LYM | 17 | кл/мкл |
| CD3/CD16+56 (NKT), % от LYM | 0.2 | % |
| CD3+CD16+CD56 ⁺ Lym (T-NK-cells) | 12 | кл/мкл |
| CD56 ⁺ high NK, % от NK-cells | 2.0 | % |
| CD56 ⁺ high NK | 12 | кл/мкл |
| CD16+56 ⁺ (NK-клетки), % от LYM | 10.0 | % |
| CD3-CD16+CD56 ⁺ Lym (NK-cells) | 581 | кл/мкл |

1.6 Пациент №4 (на дом)

Данные

Из выписок. Подозрение на первичный иммунодефицит. Иммунологические тесты не проводились.

Анализ MLPA:

Локус 22q11: DGS-регион / Число копий LCR22-A n=2; LCR22-B n=2; LCR22-C n=2; LCR22-D n=2; LCR22-E n=2; LCR22-F n=2; LCR22-G n=2

методом MLPA с использованием набора реактивов P250-B2 DiGeorge probemix (MRC-Holland) проведен анализ числа копий генов локуса 22q11 (DGS-регион), изменения в котором приводят к развитию синдрома Диджорджи и велокардиофациального синдрома. Делеций/дупликаций не выявлено.

Примечание:

- LCR22-A: гены CLTCL1, HIRA, CDC45, CLDN5, GP1BB, TBX1, TXNRD2, DGCR8.
- LCR22-B: гены ZNF74, KLHL22, MED15 (PCQAP).
- LCR22-C: гены SNAP29, LZTR1.
- LCR22-D: гены HIC2, PPIL2, TOP3B.
- LCR22-E: гены RTDR1, GNAZ, RTDR1, RAB36.
- LCR22-F: гены SMARCB1.
- LCR22-G: ген SNRPD3.

Chapter 2

HLA-типирование

2.1 Генетические особенности

Главный комплекс гистосовместимости - комплекс тесно связанных генетических локусов, расположенных на коротком плече 6-ой хромосомы (6p), а также их белковых продуктов, отвечающих за развитие иммунного ответа и синтез трансплантационных антигенов. Этот комплекс содержит больше 200 генов. Сцепленные группы генов МНС называются гаплотипами. Функции генов МНС заключаются в следующем (жирным выделены функции, обозначающие цель существования такой системы)

- **Обеспечение процессинга и презентации антигенных пептидов - индукторов и мишеней иммунного ответа;**
- Обеспечение взаимодействия клеток
- Распознавание собственных, измененных собственных и чужеродных клеток; запуск и реализация иммунного ответа против носителей генетической информации
- Поддержание иммунологической толерантности (в том числе во время беременности);
- Участие в селекции Т-лимфоцитов;
- **Создание генетического разнообразия и обеспечение выживаемости вида.**

Исторически сложилось, что главный комплекс гистосовместимости у человека называют человеческим лейкоцитарным антигеном (Human Leukocyte Antigen, HLA). Поэтому процесс определения аллелей главного комплекса гистосовместимости у человека называется HLA-типированием. Генетическая карта HLA представлена

2.2 Биоинформатические особенности

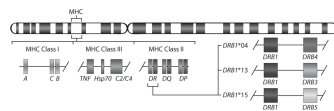


Figure 2.1: Генетическая карта HLA

Part II

Анализ иммунных репертуаров

Chapter 3

Анализ данных с помощью cellranger

Chapter 4

Библиотека Seurat

Part III

Компьютерное конструирование вакцин и антител

Chapter 5

Проектирование мультиэпитопной вакцины

Chapter 6

Защита проектов

Chapter 7

Моделирование трехмерной структуры антитела

Chapter 8

Моделирование взаимодействия антитело-антиген

Chapter 9

Зачёт

Примерный перечень вопросов к зачету.

1. Клиническая интерпретация результатов NGS. Алгоритм фильтрации вариантов
2. Заключение клинического биоинформатика
3. HLA-типирование. Область применения. Используемые программы и принципы их работы
4. Пайплайн cellranger.
5. Анализ результатов scRNA-seq. Визуализация данных
6. Иммуноинформатические ресурсы и базы данных
7. Этапы разработки медицинских препаратов
8. Типы иммунобиологических препаратов
9. Моделирование взаимодействия антитело-антиген
10. Моделирование трехмерной структуры антитела
11. Понятие об обратной вакцинологии
12. Этапы компьютерного конструирования вакцин

References

//... {#refs} //...

