

Отзыв

на автореферат диссертации Кораблева Алексея Николаевича на тему «Характеристика и эффекты масштабных делеций и дупликаций района гена *Cntnb* мыши, полученных при помощи технологии CRISPR/Cas9», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Стремительное развитие технологий анализа генома и их внедрение в диагностическую практику привело к генерации огромных объемов информации о генетической изменчивости, не всегда имеющей однозначно интерпретируемое клиническое значение. Масштаб проблемы очевиден при сопоставлении накопленных к настоящему времени сведений о мутациях в более чем 1000 генах, ассоциированных с развитием интеллектуальных нарушений, с числом аннотированных в базе данных наследственных болезней человека (OMIM) генетических форм умственной отсталости, число которых на февраль 2021 года составляет всего 243 единицы. Наличие 4-кратного разрыва между продолжающим накапливаться объемом генетических данных и числом надежно диагностируемых наследственных форм умственной отсталости есть результат объективных методологических и концептуальных проблем в решении задачи интерпретации патогенетической значимости каждого нового идентифицируемого генетического варианта в геноме конкретного пациента.

Среди ряда существующих вариантов решения обозначенной проблемы, особое место отводится модельным организмам, при исследовании которых можно проследить те или иные аспекты формирования патологических фенотипов. Вместе с тем, несмотря на достаточно хорошо отлаженные методологические аспекты получения животных моделей, воспроизводящих моногенные формы наследственных заболеваний, вопросы моделирования патологий, связанных с хромосомным дисбалансом, во многом остаются еще не разработанными. Более того, лишь несколько исследовательских групп в мире владеют технологией редактирования генома на хромосомном уровне. В этом отношении диссертационное исследование Кораблева Алексея Николаевича является не только актуальным и современным, но и в значительной степени передовым на мировой арене.

В диссертации разработан и успешно апробирован подход к целевому внесению протяженных хромосомных микроделеций и микродупликаций, размером 1137 kb и 2274 kb соответственно, в регион хромосомы 6 мыши, содержащий ген *Cntnb*, изменчивость по числу копий которого в последние несколько лет была ассоциирована с целым спектром нейropsychических нарушений у человека, включая умственную отсталость и расстройства аутистического спектра. Кроме методологических аспектов, разработанная технология позволила получить ряд результатов, имеющих фундаментальное значение. Во-первых, впервые показано, что целевые делеции в хромосомах мыши формируются на стадии одноклеточной зиготы с высоким уровнем коррекции репарации вносимых системой CRISPR/Cas9 двухцепочечных разрывов ДНК. Во-вторых, реконструирован возможный механизм одновременной генерации делеций и дупликаций, что чрезвычайно важно для создания моделей нового класса хромосомных заболеваний, обусловленных реципрокными хромосомными микроделециями и микродупликациями. Наконец, существенное значение имеет и выявленный факт дозовой зависимости экспрессии гена *Cntnb* от числа его копий. Примечательным является тот момент, что выявленная дозовая зависимость не воспроизводит феномен снижения уровня экспрессии гена при хромосомной дупликации в другой модельной системе, полученной коллективом авторов ранее (Gridina et al., Mol Neurobiol, 2018) и основанной на нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациента, носителя хромосомной микродупликации 3p26.3, затрагивающей единственный ген *CNTN6*. Выявленные отличия акцентируют внимание на важности

учета хромосомной локализации моделируемой перестройки или гена – в субтеломерной области короткого плеча хромосомы 3 человека или в интерстициальном регионе хромосомы 6 мыши. Вероятно, что различная хромосомная локализация, геномное окружение и трехмерная организация хроматина при моделировании хромосомного дисбаланса могут иметь решающее значение для создания адекватных моделей. Таким образом, результаты проведенного исследования имеют несомненную научно-практическую ценность, заключающуюся в том, что моделирование эффектов хромосомных аномалий должно основываться и учитывать принципы хромосомного уровня организации наследственной информации.

По теме диссертации опубликовано 4 статьи в международных и российских рецензируемых журналах, сделан ряд устных докладов на конференциях национального и международного уровня.

Завершая анализ автореферата, можно заключить, что работа является законченным, самостоятельным, научно-квалификационным исследованием, результаты которого могут быть классифицированы как решение крупной научной задачи в области современной генетики, связанной с разработкой стратегии моделирования хромосомных заболеваний с использованием технологий редактирования генома на хромосомном уровне. Работа выполнена на самом высоком современном методическом и технологическом уровне, а ее результаты имеют существенное теоретическое и научно-практическое значение. Диссертация А.Н. Кораблева на тему «Характеристика и эффекты масштабных делеций и дупликаций района гена *Cntn6* мыши, полученных при помощи технологии CRISPR/Cas9» по своей актуальности, новизне, объему проведенных исследований, научной и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, в соответствии с п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакциях от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 01.10.2018 г. № 1168), а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Заместитель директора по научной работе
ФГБНУ «Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»,
руководитель лаборатории цитогенетики
Научно-исследовательского института
медицинской генетики Томского НИМЦ
доктор биологических наук, профессор РАН

 И.Н. Лебедев

Сведения об официальном оппоненте:

Лебедев Игорь Николаевич, доктор биологических наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», руководитель лаборатории цитогенетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского НИМЦ, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5. Тел. 8 (3822) 51-11-09; e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Подпись И.Н. Лебедева заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ «Томский
Национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук», к.б.н.


И.Ю. Хитринская
 2021 г.