

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Маланхановой Туяны Баировны на тему: «Создание и характеристика клеточной модели болезни Хантингтона», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 (клеточная биология, цитология, гистология)

В диссертационной работе Маланхановой Т.Б. поставлена важная научная задача по созданию и характеристике модельной системы, отражающей клеточные процессы и молекулярные механизмы патогенеза при болезни Хантингтона. Для решения данной задачи автором диссертационного исследования использован подход с получением индуцированных плорипотентных стволовых клеток человека.

Актуальность работы не вызывает сомнений, так как болезнь Хантингтона остается одной из наиболее сложных задач для современной медицины ввиду полиморфности генетических поломок, вызывающих нарушения структуры гентингтина. В этой связи особую ценность приобретает возможность получения персонифицированной клеточной модели из материала от конкретного больного для тестирования фармакологических средств и изучения патогенеза болезни Хантингтона.

В диссертационной работе Маланхановой Т.Б. была разработана Cas9-опосредованная система для внесения триплетов CAG в ген НТТ, а также получена подробная характеристика индуцированных плорипотентных клеток (ИПСК) с последующей дифференцировкой в срединные шипиковые нейроны и характеристикой фенотипа клеток с мутантным геном НТТ.

Отдельного внимания заслуживает подход к внесению длинного набора триплетов CAG с помощью системы CRISPR/Cas9, который вначале был отработан на линейных клетках HEK293 (в ходе отработки было изучено более 100 клонов), а затем перенесен на эмбриональные фибробласты человека для создания клеточной модели болезни Хантингтона на основе перепрограммированных ИПСК.

В работе проведена подробная характеристика полученных ИПСК, включая экспрессию маркерных генов и спонтанную дифференцировку *in vitro*, после чего из ИПСК (с использованием отдельного изогенного «здорового» контроля) были получены срединные шипиковые нейроны и дана описательная характеристика патологических изменений, характерных для болезни Хантингтона. В ходе валидации клеточной модели были убедительно показаны агрегаты мутантного гентингтина, а также специфические патологические изменения на микроструктурном уровне – увеличение числа нейрональных шипиков, появление дефектных синапсов и аномальных митохондрий в клетках с измененным геном НТТ.

С функциональной точки зрения в работе приведена достаточная и подробная характеристика полученных клеточных линий – установлено нарушение формирования нейрональных розеток при дифференцировке мутантных ИПСК, отражающее возможное влияние изменений в гене НТТ на развитие и формирование некоторых отделов ЦНС.

Интересной находкой является дифференциальная чувствительность клеток-предшественников шипиковых нейронов к депривации BDNF, что хорошо воспроизводит описанный в литературе фенотип, наблюдаемый в клеточных моделях этого заболевания. Выявленное снижение уровня N-кадгерина, отражающее изменения метаболизма в зрелых срединных шипиковых нейронах хорошо коррелировало с опубликованной ранее

тенденцией с зависимостью изменений от числа внесенных триплетов CAG и также показало релевантность изменений в клетках с мутантным фенотипом.

Использованные автором в работе экспериментальные и статистические методы являются современными и вкупе с корректной интерпретацией позволили сделать логичные и закономерные выводы, подкрепленные полученными данными. Обзор литературы, описание методов и характер изложения результатов позволяют объективно трактовать изложенные в работе положения, принципиальных замечаний по самой работе и ее оформлению нет.

Представленная к защите диссертационная работа содержит решение актуальной научной задачи и выполнена в соответствии с существующими в этой области стандартами. По результатам диссертации Маланхановой Т.Б. опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК, в том числе 3 в зарубежных изданиях, включая PLOS One и Stem Cell Res, относящиеся к высокорейтинговым по базам данных Scopus и Web of Science

Работа является законченным научно-квалификационным исследованием, отличающимся новизной и имеющим практическую ценность. Диссертация Маланхановой Т.Б. соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Павел Игоревич Макаревич, к.м.н.
зав. лаб. Генно-клеточной терапии
Института регенеративной медицины
МГУ имени М.В. Ломоносова
email: pmakarevich@mc.msu.ru

Подпись



Адрес:
Ломоносовский пр-т, 27, корп. 10
119192, Москва
Тел/факс: +7 495 531 2777

«13» декабря 2019 г.

Подпись Макаревича Т.И. удостоверена.
Начальник отдела кадров Центра МГУ им. М.В. Ломоносова

