

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 плюрипотентных 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 гентингина. 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 HTT, а также получена подробная характеристика индуцированных плюрипотентных клеток (ИПСК) с последующей дифференцировкой в срединные шипиковые нейроны и характеристикой фенотипа клеток с мутантным геном HTT.

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 репрограммированных 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 гентингина, а также специфические патологические изменения на микроструктурном уровне – увеличение числа нейрональных шипиков, появление дефектных синапсов и аномальных митохондрии в клетках с измененным геном HTT.

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 HTT 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

