

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Немудрого Артема Александровича
**“Исправление мутации в гене аргинин-вазопрессина крыс линии
Brattleboro *in vitro*”**, представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Работа Немудрого А.А. посвящена одной из важнейших проблем современной биологии – разработке подходов для терапии наследственных заболеваний, используя геномное редактирование с помощью системы CRISPR/Cas9. В качестве модели для изучения возможности терапии наследственных заболеваний с помощью редактирования геномов *ex vivo* была выбрана лабораторная линия крыс Brattleboro.

Целью диссертанта было создать систему для гомологичной рекомбинации в гена аргинин-вазопрессина и получить клетки крыс линии Brattleboro с исправленной мутацией в данном гене. Для этого понадобилось создать набор генетических конструкций, экспрессирующих элементы системы CRISPR/Cas9, для внесения двунитевых разрывов в различные участки гена аргинин-вазопрессина в эмбриональных фибробластах крыс линии Brattleboro и провести анализ ее активности в гене. Для создания надежной системы редактирования понадобилось выяснить эффективность направленного внесения двунитевых разрывов в выбранном сайте гена арг, частоту возможных нецелевых эффектов данной системы, прежде всего в паралогичном гене окситоцина, а также в других потенциальных сайтах генома фибробластов. Конечным результатом работы должно быть исправление мутации в гене аргинин-вазопрессина.

В результате кропотливой работы автору удалось убедительно продемонстрировать, что созданная система редактирования направленно вносит модификации во второй экзон мутантного гена аргинин-вазопрессина крыс линии Brattleboro, не вызывая при этом нецелевых эффектов в паралогичном гене окситоцина. Диссертант обнаружил, что при

репарации двуцепочечного разрыва, направленно внесенного системой CRISPR/Cas9, происходит исправление мутации в гене аргинин-вазопрессина в результате гомологичной рекомбинации с донорным плазмидным вектором.

В работе использовались методы генной инженерии, методы получения культуры клеток фибробластов, а также электропорация плазмидных ДНК и селекция рекомбинантных клеток. В результате удалось получить эмбриональные фибробласты с исправленной мутацией. Они могут использоваться в дальнейшем для репрограммирования к плюрипотентному состоянию, что позволит использовать их разработки клеточной терапии наследственных заболеваний.

Диссертант, используя современные методы молекулярной генетики, получил новые интересные и достоверные результаты. Работа Немудрого А.А. выполнена на самом высоком методическом уровне. Работа является законченным научно-квалификационным исследованием, отличающимся новизной и имеющим практическую ценность. Диссертация Немудрого Артема Александровича "Исправление мутации в гене аргинин-вазопрессина крыс линии Brattleboro *in vitro*" соответствует требованиям п. 9, абзац 2 «Положения о присуждении учёных степеней», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Чуриков Николай Андреевич,
доктор биологических наук, проф.,
Зав. лабораторией эпигенетических механизмов
регуляции экспрессии генов ИМБ РАН,
119991 Москва, ИМБ РАН, ул. Вавилова, 32,
т. 8-499-135-97-53, e-mail: tchurikov@eimb.ru

Н.А. Чуриков

