

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Немудрого Артема Александровича
«ИСПРАВЛЕНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА
КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO IN VITRO» на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности
03.02.07 – генетика**

В настоящее время для лечения наследственных заболеваний человека сформулировано положение о принципах создания «исправленных клеток» пациента при помощи методов редактирования геномов. Необходимо отметить, что исследование А.А. Немудрого, посвященное данной проблеме является актуальным и находится на передовых рубежах современной науки. Целью работы автора являлось создание модельной системы для гомологичной рекомбинации в локусе гена аргинин-вазопрессина и получить клетки крыс с исправленной мутацией в данном гене.

Работа выполнена на клетках мышей линии BRATTLEBORO – животных с несахарным диабетом - у которых нарушена секреция гормона аргинин-вазопрессина в нейронах гипоталамуса.

В результате трудоемкой работы автору удалось создать набор генетических конструкций, экспрессирующих CRISPR/Cas9, получить культуру эмбриональных фибробластов крыс линии Brattleboro, провести селекцию рекомбинантных клеток и анализ полученных клональных линий.

Диссертантом были получены не вызывающего никакого сомнения пионерские данные о том, что «система CRISPR/Cas9 направленно вносит модификации во второй экзон мутантного гена аргинин-вазопрессина крыс

линии Brattleboro, не вызывая при этом нецелевых эффектов в паралогичном гене окситоцина».

А.А. Немудрый убедительно показал, что в процессе репарации двуцепочечного разрыва, обусловленного интегрированной системой CRISPR/Cas9, в результате гомологичной рекомбинации с донорским плазмидным вектором происходит исправление мутации в гене аргинин-вазопрессина в клетках крыс линии Brattleboro. Таким образом, диссертант не только блестяще выполнил поставленную перед ним задачу, но и создал основу для моделирования на этих животных клеточной терапии тех или иных заболеваний, обусловленных патологией определенных нейронов (в частности, в субстанции нигра и т.п.).

Теоретическая значимость исследования обусловлена полученными автором выводами, которые вносят существенный вклад в понимание подходов к исправлению патологического генома клеток за счет редактирования генома *ex vivo*. Практическое значение диссертационные результаты данного исследования могут быть использованы как в качестве нового информативного материала на лекциях для студентов и аспирантов биологического факультета Университетов, так и в качестве основы проведения дальнейших экспериментов специалистами, работающими в области генетики и биологии развития.

Необходимо отметить, что методики, использованные в исследовании адекватны поставленным задачам. Выводы обоснованы. А.А. Немудрый является соавтором 7 публикаций, в том числе и трех статей, опубликованных в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Таким образом, работа А.А. Немудрого является законченным научно-квалификационным исследованием, имеющим научную новизну и практическую значимость. Диссертация Немудрого Артема Александровича "Исправление мутации в гене аргинин-вазопрессина крыс линии Brattleboro *in vitro*" соответствует требованиям п.9 абзац 2 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Ведущий научный сотрудник

Отдела молекулярной генетики

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,

доктор медицинских наук

(Дыбан Павел Андреевич)

197376, Санкт-Петербург,

улица Академика Павлова, дом 12

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

(812) 234-68-68, iem@iemrams.ru

20.10.2017

