

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.

Диссертационная работа Немудрого Артема Александровича посвящена созданию системы CRISPR/Cas9 для исправления мутации в гене аргинин-вазопрессина и оценке эффективности гомологичной рекомбинации на клетках крыс линии Brattleboro с целью разработки подходов к генной терапии моногенного наследственного заболевания - несахарного диабета. Актуальность диссертационной работы не вызывает сомнения как в теоретическом, так и в практическом отношении.

Целью работы являлось создание системы для гомологичной рекомбинации в локусе гена аргинин-вазопрессина и получение клеток мутантной линии крыс Brattleboro с исправленной мутацией в гене аргинин-вазопрессина *ex vivo*.

Используя современные методы исследования, соискатель создал набор генетических конструкций, экспрессирующих элементы системы CRISPR/Cas9, для внесения двунитевых разрывов в участки локуса гена аргинин-вазопрессина, и проанализировал активность разработанной системы в целевых участках исследуемого локуса. Разработанная им система CRISPR/Cas9 способна направленно вносить модификации во второй экзон мутантного гена аргинин-вазопрессина, не вызывая при этом нецелевых эффектов в паралогином гене окситоцина. В ходе проведения исследования было получено направленное исправление мутации в гене аргинин-вазопрессина в результате гомологичной рекомбинации с донорным плазмидным вектором. Интересными и перспективными являются данные биоинформатического анализа потенциальных нецелевых эффектов, а также исследование особенностей гомологичной рекомбинации при исправлении мутации. В качестве комментария хотелось бы узнать мнение диссертанта о путях повышения эффективности гомологичной рекомбинации при использовании разработанной системы, а также о влиянии неканоничных последовательностей смежных с протоспейсером на риск нецелевых эффектов.

Работа Немудрого Артема Александровича выполнена на современном методическом уровне, полученные экспериментальные данные не вызывают сомнений в их достоверности и полностью соответствуют выводам. Результаты диссертационной работы опубликованы в ведущих отечественных и зарубежных журналах и неоднократно представлены на федеральных и международных научных конференциях.

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.

Киселев Антон Вячеславович
к.б.н., с.н.с. лаборатории
пренатальной диагностики
ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О.Отта»

Баранов Владислав Сергеевич
д.м.н., член-корр. РАН
Заведующий лабораторией
пренатальной диагностики
ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О.Отта»
199034 Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3,
эл. почта: baranov@vb2475.spb.edu
тел. (812) 3280487

Подпись руки Баранов В. С.
удостоверяю
"29" 11 2014г
Специалист отд. кадров

