

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Немудрого Артема Александровича на тему: «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 А.А. является исследованием, в котором решена важная задача для развития персонализированной медицины и лечения наследственных заболеваний – а именно, осуществлено исправление мутации в клетках, полученных от животных, страдающих наследственным заболеванием (несахарным гипоталамическим диабетом). В работе объединены самые современные представления о причинах развития наследственных патологий, а также о механизмах и подходах коррекции генетического материала. Согласно современной концепции терапии генетических заболеваний у пациентов планируется извлекать клетки, которые после модификации и проверки на безопасность будут ре-трансплантированы. Однако стоит отметить, что эта область медицинской науки только начинает развиваться, поэтому крайне важным является этап создания клеточных/животных моделей наследственных заболеваний с последующей коррекцией мутаций, вызвавших болезнь. Именно такая задача и решается в диссертационной работе Артема Александровича. Исправляя мутации в гене аргинин-вазопрессина, диссертант одним из первых использовал в своей работе в качестве модельного объекта животных с патологией нейронов (нейроны гипоталамуса), а также одним из первых предпринял попытку редактировать генетическую патологию нейральных клеток. Выполнение работы осложнялось наличием в геноме крыс другого гена с практически идентичной нуклеотидной последовательностью (ген *Oxt*) и тем, что выбранная патология, является аутосомно-рецессивным заболеванием. Из-за этого пришлось тщательно продумывать дизайн исследования (выбирать более специфичные gRNA) и проводить дополнительное изучение свойств модифицированных клеток (целевые-нецелевые модификации, исправление обоих мутантных аллелей). Несмотря на все сложности Артем Александрович отлично справился с поставленной задачей. Он проявил изобретательность, наблюдательность и глубокое понимание предмета своей диссертационной работы. Однако в ходе ознакомления с авторефератом все же возникло несколько замечаний:

1. в разделе "Материалы и методы" описание процедур селекции и электропорации было бы логично поменять местами;

2. сокращения CR-7 и CR-8 при первом упоминании не расшифрованы. Первое упоминание на странице 6, а объяснение на странице 7;

3. в разделе "Материалы и методы" описывается выделение первичной культуры эмбриональных фибробластов, а далее работы проводятся на линии клеток RNFF1, которая, судя по всему, является производным выделенных фибробластов?

4. в автореферате, к сожалению, не подтверждено восстановление синтеза целевого белка аргинин-вазопрессина методом WesternBlot.

Обнаруженные "недостатки" ни в коей мере не снижают достоинств диссертационной работы Немудрого А.А. Выдвигаемые на защиту научные положения и выводы обоснованы и логичны. Работа выполнена на высоком уровне с учетом самых последних рекомендаций использования технологий редактирования генома в терапевтических целях - в частности исправление мутации осуществлено *in vitro*, а

полученные клетки оценены на наличие нежелательных модификаций. Работа Артема Александровича также содержит решение актуальной практической задачи- диссертантом подтверждена возможность использования протокола редактирования генома для эффективного исправления мутаций в клетках, полученных от организма с наследственной патологией.

По результатам диссертации Немудрого А.А. опубликовано 3 статьи в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах, входящих в перечень ВАК, и 6 тезисов российских конференций.

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.

Максим Николаевич Карагяур, к.б.н.
с.н.с. Института регенеративной медицины
МГУ имени М.В. Ломоносова
email: m.karagyaur@mail.ru

Подпись Карагяур

академик Всеволод Арсеньевич Ткачук, д.б.н.
директор Института регенеративной медицины
декан Факультета фундаментальной медицины
МГУ имени М.В. Ломоносова
email: tkachuk@fbm.msu.ru

Подпись Ткачук



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

«14» сентября 2017 г.