

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Устьянцевой Елизаветы Ивановны  
**“Создание и функциональный анализ клеточной модели бокового амиотрофического склероза с помощью генетически-кодируемых биосенсоров”**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Работа Устьянцевой Е.И. посвящена одной из важнейших проблем современной биологии – изучению природы наследственных нейродегенеративных заболеваний на молекулярном уровне. В качестве объекта исследования выбрано одно из наиболее распространенных нейродегенеративных наследственных заболеваний человека – боковой амиотрофический склероз (БАС). Оно характеризуется постепенной гибелью моторных нейронов. Предполагается, что окислительный стресс может быть как причиной возникновения патологии, так и следствием нарушения других процессов. Для изучения патогенеза заболевания необходима модельная система, которая в каком-то приближении воспроизводит его признаки. Известно, что один из генов, связанных с развитием БАС, *SOD1*, кодирует белок антиокислительной системы клетки - Cu-Zn супероксиддисмутаза 1, которая вовлечена в превращение молекул супероксида в перекись водорода.

Целью диссертанта было создать и охарактеризовать клеточную модель бокового амиотрофического склероза на основе индуцируемых плюрипотентных стволовых клеток, несущих вставки ДНК, кодирующие биосенсоры перекиси водорода. В результате кропотливой работы диссертантом была впервые получены изогенные линии ИПСК, содержащие однонуклеотидные замены с.272A>C и с.382G>C в гене *SOD1*. Обнаружено, что разные мутации в гене *SOD1* проявляются по-разному на уровне

моторных нейронов, полученных из ИПСК, с более выраженным патологическим действием с.382G>C.

Кроме того, на основе здоровых ИПСК, пациент-специфичных ИПСК и ИПСК с внесенными заменами диссертантом впервые был получен ряд трансгенных линий, содержащих генетические конструкции для доксициклин-управляемой экспрессии биосенсоров перекиси водорода в цитоплазме и митохондриях. Это было сделано с помощью CRISPR/Cas9 в специфический «safe harbor»-локус *AAVS1* (*PPP1R12C* locus) на 19 хромосоме. В экспериментах обнаружено, что сенсоры продуцировали сигнал, отражающий изменения уровня перекиси водорода в цитоплазме и митохондриях.

Диссертант, используя современные методы молекулярной генетики, получил новые интересные и достоверные результаты. Работа Устьянцевой Е.И. выполнена на самом высоком методическом уровне. Диссертация Устьянцевой Е.И. по своей актуальности, новизне, объему проведенных исследований является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

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](mailto:tchurikov@eimb.ru)

Н.А.Чуриков

Подпись Н.А. Чурикова, уполномоченный  
Член секретариата ИМБ РАН  
Бондарев А.К.

