

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Устьянцевой Елизаветы Ивановны на тему: «Создание и функциональный анализ клеточной модели бокового амиотрофического склероза с помощью генетически-кодированных биосенсеров», представленной к защите по специальности 03.03.04 «клеточная биология, цитология, гистология»

Работа Е.И. Устьянцевой посвящена чрезвычайно важной и актуальной теме, являющейся важным вкладом в исследование молекулярно-генетических основ редкого заболевания с непрерывно-прогрессирующим течением и драматическим патогенезом – бокового амиотрофического склероза (БАС); а также, фактически, разработке одного из элементов *in vitro* тест-системы для нужд последующих доклинических исследований в рамках разработки эффективных лекарственных средств и генной терапии этого заболевания. Следовательно, работа содержит современную и своевременную постановку проблемы.

Цель исследования – сформулировано ясно. Решение поставленных автором задач напрямую ведет к достижению цели.

Научная новизна обеспечена совокупностью примененных новейших технологий исследования: получения пациент-специфичных (на модели постоянной линии) клеток с индуцированной плюрипотентностью (ИПСК), генетическую модификацию (редактирование) полученных линий при помощи молекулярного инструментария CRISPR/Cas9, «врезка» последовательностей, обеспечивающих работу т.н. «биосенсора» для последующей детекции некоторых метаболических сдвигов в культуре.

Использованный материал и примененные методы достаточны, адекватны, современны, высокоинформативны.

Полученные результаты. Автором показано, что внесение однонуклеотидных замен в ген *SOD1* с помощью CRISPR/Cas9 с целью воспроизведения естественных мутаций, последующее обеспечение эффекта биосенсора возможно, не искажает облигатных свойств клеток, полученных от пациента и искусственно трансформированных в ИПСК. Несмотря на выполненные генетические модификации автор эффективно выполнила процедуру индукции направленной дифференцировки в мотонейроны, которые демонстрировали фенотипические признаки недостаточности *SOD1*. Последующие эксперименты с выявлением диапазона работы трансгена в качестве биосенсора

позволило рекомендовать его для последующего изучения роли окислительного стресса в патоморфогенезе некоторых форм БАС. Кроме этого, предложенный подход может быть распространен и на изучение других заболеваний.

Выводы напрямую следуют из полученных автором результатов; сформулированы ясно.

Положения выносимые на защиту могли бы быть расширены, за счет результатов экспериментов по функциональной оценке т.н. биосенсоров.

Публикации по диссертационной работе и апробация – достаточны, соответствуют предъявляемым требованиям.

Общие пожелания. Поскольку работа выполнена с применением высокотехнологичных методов исследования, то изложение предпосылок к исследованию, современный статус знаний по проблеме, результаты собственных трудов желательно осуществлять понятным языком. В представляемом виде автореферат перегружен трудночитаемыми предложениями с избыточным количеством аббревиатур, сокращений и т.п. Кроме этого, автореферат изобилует стилистически неудачными и даже неуместными оборотами; написан «неровным» русским языком. Указанное замечание не снижает общую высокую оценку полученных результатов.

Вопросы по работе:

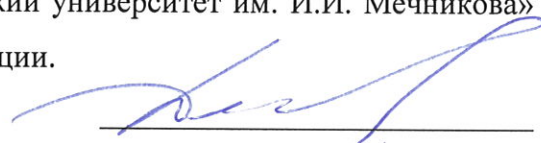
- в связи с отсутствием в автореферате информации о применённой методологии морфометрии, важно узнать у автора способ измерения линейных параметров нейронов *in vitro* (как в монослое, так и в матригеле).

- Применены ли автором иммуноцитохимические методы верификации результатов получения ИПСК и их направленной дифференцировки? Каковы выявленные особенности синтеза специфических продуктов (паттерн распределения, интенсивность и т.п.)? Или автор выполнял только молекулярно-генетическую верификацию результатов индукции дифференцировки?

Таким образом, автореферат и диссертация Е.И. Устьянцевой по своей актуальности, новизне, объему проведенных исследований является законченной научно-квалификационной работой, соответствует паспорту специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, и отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства

Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. №1024, от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук. Автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Деев Роман Вадимович,  
кандидат медицинских наук (по специальности 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология), доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.



Служебный адрес и телефон: 191015, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47.  
+7(812)303-50-00; E-mail: Roman.Deev@szgmu.com

17.08.2021

Согласен на обработку персональных данных.

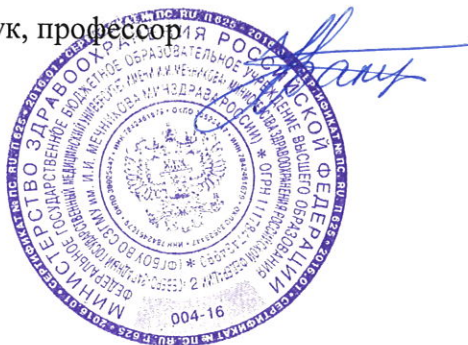


Р.В. Деев

17.08.2021

Подпись к.м.н., доцента Деева Романа Вадимовича заверяю.

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор



Н.В. Бакулина

17.08.2021