

#### ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы 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.

Диссертационная работа посвящена актуальной, но недостаточно разработанной проблеме клеточной биологии и неврологии. Несмотря на большое количество работ, ведущихся в области наследственных неврологических заболеваний, болезни моторного нейрона остаются одними из наименее изученных и понимаемых врожденных заболеваний нервной системы. Значимый прогресс в изучении данной группы заболеваний был достигнут с внедрением в широкую клиническую практику методов генетической диагностики. Так, с учетом преимущественно наследственного характера данной патологии, ключевые достижения в области ее изучения стали возможны благодаря появлению новых диагностических технологий в области медицинской генетики, в частности, секвенирования нового поколения и идентификации широкого спектра причин, приводящих к развитию бокового амиотрофического склероза (БАС). В связи с редкостью каждой конкретной генетической формы БАС и крайне неблагоприятным прогнозом при данном варианте патологии, успехи в изучении этиопатогенеза данного заболевания существенно отстают от успехов в области других групп нейромышечных заболеваний, например спинально-мышечной атрофии и миодистрофии Дюшена. В связи с этим разработка достоверных клеточных моделей, обладающих всеми свойствами двигательных нейронов и приближенных к экспрессионному профилю данных клеток является актуальной задачей клеточной биологии, а также фундаментальной и клеточной медицины.

Одной из наиболее перспективных и информативных клеточных моделей является культура индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), полученных в результате репрограммирования соматических клеток человека. иПСК способны к направленной дифференцировке, в частности, в проводящие и двигательные нейроны. Разные стадии этой дифференцировки отражают процессы спецификации клеток-предшественников с последующим их созреванием. Благодаря этому возможно

оценивать нарушения дифференцировки и активности сигнальных путей, лежащих в её основе, а также патологические молекулярные процессы, приводящие к развитию патологии, в частности БАС. Неоспоримым достоинством иПСК является то, что возможно изучать функционирование и пути дифференцировки клеток от конкретного пациента с выявленной мутацией, что и было выполнено в представленной работе. Мононуклеары периферической крови были репрограммированы в иПСК путём их трансдукции генами OCT3/4, SOX2, KLF4, CMYC. Преимуществом данного подхода является отсутствие интеграции трансгенов в геном клетки и кратковременное существование вирусной РНК в репрограммируемой клетке. Все полученные линии иПСК были охарактеризованы с позиции структурной целостности хромосом и способности вызывать формирование тератом. Для каждого генетического варианта было получено и забанкировано по 3-7 линий иПСК, а также использован подход создания изогенных линий, позволяющий нивелировать влияние общего генетического фона на изучаемые молекулярные внутриклеточные процессы.

Достоверность и обоснованность проведенного научного исследования обеспечиваются целостным, комплексным подходом к научному исследованию, адекватностью методов исследования цели и задачам. Научная новизна работы определяется впервые проведенными в отечественной науке работами по созданию изогенных линий от пациентов с БАС и применением биосенсорных систем в аспекте нейрональной дифференцировки. Отдельно необходимо отметить современный уровень применяемых технологий (генно-инженерные биосенсоры, методика CRISPR/Cas9, ультраструктурный хромосомный анализ) и методическую базу проведенных исследований.

Предложенные выводы и положения соответствуют цели и задачам исследования, являются убедительными и достоверными, внедрены в практику и способствуют результативному решению организационных и методических задач по созданию информативных клеточных моделей генетически-обусловленных заболеваний в неврологии.

Совокупность научных и прикладных результатов работы по исследуемой проблеме можно квалифицировать как новое решение задачи, имеющей существенное значение для персонализированного подхода в клеточной биологии. Работа отличается научным стилем и логичностью изложения, материал в целом структурирован, стратегия и тактика исследования выбраны правильно.

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.

Костарева Анна Александровна, д.м.н.

Директор Института молекулярной биологии и генетики

ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»

197341, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова 2.

7 812-7023777

kostareva\_aa@almazovcentre.ru

Торжественно  
заявлено.

Ученый совет  
института



А.А. Костарева

Ильинский А.О.

бх 2171/94  
30.09.2021