

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

Боковой амиотрофический склероз (БАС) относится к наиболее распространенным неуклонно прогрессирующим нейродегенеративным заболеваниям. Этиология БАС неоднородна и до конца неизвестна. В его патогенезе ключевую роль играет окислительный стресс и глутаматная эксайтотоксичность, которые наряду с нарушениями процесса транскрипции и синтеза белка и нарушениями функции митохондрий приводят к гибели моторных нейронов, и, как следствие, к нарастающим параличам скелетной мускулатуры и диафрагмы. Разработка эффективных методов лечения БАС диктует необходимость углубленного изучения молекулярных механизмов развития болезни и тестирования перспективных лекарственных соединений. Эта проблема может быть разрешена с помощью клеточных моделей, воспроизводящих патологический клеточный фенотип заболевания. Разработке такой модели для изучения БАС и посвящена диссертационная работа Е.И. Устьянцевой. Для моделирования автором выбрана одна из наиболее распространенных наследственных форм БАС, обусловленная мутациями гена супероксиддисмутазы-1, расположенного в 21-й хромосоме, а патологическим процессом, приводящим к гибели нейрона – окислительный стресс, что вполне логично, учитывая что супероксиддисмутаза-1 - белок антиокислительной системы клетки.

Работа носит комплексный характер, выполнена на высоком методическом уровне. В качестве источника моторных нейронов (МН) выбраны индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), полученные от больных с БАС. Дополнительно для исключения влияния разного генетического фона на развитие патологического процесса созданы изогенные клеточные линии с помощью методов редактирования генома, что позволяет изучить индивидуальный вклад мутаций гена супероксиддисмутазы-1 в развитие патологических молекулярных нарушений. Для фиксации патологических изменений, вызванных мутацией, а именно окислительного стресса, автор использовала генетически-кодируемые биосенсоры перекиси водорода в цитоплазме и митохондриях, экспрессия которых индуцировалась доксициклином.

Работа тщательно спланирована, все контроли соблюдены. Реакции биосенсоров охарактеризованы в ответ на различные воздействия, включающие депривацию питательных веществ, добавление перекиси водорода и индукцию глутаматной эксайтотоксичности. Все это позволило автору получить ряд абсолютно новых научных результатов: разработана модельная система,

включающая изогенные линии ИПСК, содержащие однонуклеотидные замены с.272A>C и с.382G>C в гене SOD1, и исходную здоровую линию ИПСК. Модель может быть использована для изучения патологических особенностей БАС и в качестве платформы для скрининга химических веществ. Используемые для внесения замен и создания трансгенных линий ИПСК подходы, могут быть применены для добавления новых мутаций или биосенсоров других клеточных процессов, что позволит расширить возможности клеточной модели. Созданная модель позволила установить различие в проявлении разных мутаций в гене SOD1 на уровне моторных нейронов. Автором впервые получен ряд трансгенных клеточных линий, генетически модифицированных при помощи CRISPR/Cas9 для доксициклин-управляемой экспрессии (Tet-On) биосенсоров перекиси водорода в цитоплазме и митохондриях. Доказано, что сенсоры продуцируют удовлетворительный сигнал, адекватно отражающий изменения в уровне перекиси водорода в цитоплазме и митохондриях. Выводы полностью отражают полученные результаты. Материалы диссертации изложены в 4 статьях в рецензируемых научных журналах, и главе в монографию. Автореферат написан грамотным научным языком и отлично проиллюстрирован.

В целом, знакомство с авторефератом диссертации Е.И. Устьянцевой позволяет заключить, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, содержащей комплекс результатов оригинальных исследований. По актуальности, научно-методическому уровню, новизне полученных результатов и выводам эта работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп.№9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), а ее автор Устьянцева Е.И. несомненно заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Заместитель генерального директора,
директор Института экспериментальной кардиологии
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
член-корр. РАН, д.м.н., профессор
«1» октября 2021 года

Парфенова Е.В.

121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а
Телефон: +7 (495) 414-67-12
e-mail: yeparfyon@mail.ru



Подпись Парфеновой Е.В. заверяю:
Секретарь Ученого Совета, доктор мед.наук

Скворцов А.А.