



Факультет биологии и биотехнологии

04.10.2021 № 2.19-21/04/021-1

на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

**Отзыв на автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата  
биологических наук Устьянцевой Елизаветы Ивановны  
«Создание и функциональный анализ клеточной модели бокового амиотрофического  
склероза с помощью генетически-кодируемых биосенсоров»**

Диссертационная работа Елизаветы Ивановны посвящена одному из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний боковому амиотрофическому склерозу (БАС). Данное заболевание характеризуется постепенной гибелью моторных нейронов, что приводит к параличу скелетной мускулатуры и диафрагмы. Актуальность проведения исследований механизмов развития данного заболевания, безусловно, не вызывает сомнений, особенно учитывая факт, что за последнюю четверть века прогресс в его лечении отсутствует. Для осуществления таких исследований остро стоит вопрос о необходимости создания клеточных моделей, с одной стороны, адекватно отражающих патологические изменения, происходящие в нейронах, а, с другой стороны, обеспечивающих воспроизводимость результатов.

В работе Устьянцевой Елизаветы Ивановны была создана клеточная модель БАС на основе индуцируемых плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Для создания модели репрограммировали мононуклеарные клетки периферической крови, полученные от больного наследственной формой БАС, а также от здорового донора. В диссертации сделан акцент на исследование мутаций в гене SOD1, кодирующем Cu-Zn супероксиддисмутазу 1, белок антиокислительной системы клетки. Для этого в ИПСК здорового донора с помощью системы CRISPR/Cas9 были искусственно внесены мутации в позиции с.272A>C и с.382G>C этого гена. Поскольку ИПСК с внесенными мутациями обладают генетическим фоном идентичным здоровой линии ИПСК, в полученных результатах исключается вклад индивидуальных генетических особенностей доноров, что значительно повышает воспроизводимость результатов и является преимуществом работы. Встройка в полученные линии последовательностей биосенсоров перекиси водорода сделала возможным применение данной клеточной модели для исследования проявлений окислительного стресса — одного из основных маркеров нейродегенерации.

В результате проведенных диссертантом исследований было показано, что внесенные в ген SOD1 замены по-разному влияют на функционирование моторных нейронов, что согласуется с различиями в клинической картине, к которой эти мутации приводят. На основании этого сделан вывод, что полученная клеточная модель может быть использована для исследования роли окислительного стресса в патогенезе БАС. Возможность визуализации окислительного стресса с помощью встроенного биосенсора позволяет использовать разработанную модель для мониторинга состояния нейронов, например, в процессе скрининга потенциальных лекарственных средств в фармакологических и токсикологических исследованиях.

Автореферат Устьянцевой Е.И. в целом хорошо написан, логично и понятно изложен. Можно рекомендовать только избегать формулировок подобных «мы решили», «мы обнаружили», «мы выяснили» и использовать обезличенные конструкции предложений, а также избегать в научном тексте бытовых выражений подобных «не удалось получить внятной реакции», «отразить страдания нейронов». Также после прочтения автореферата возникли следующие вопросы:

- 1) На сколько я понимаю, для детекции митохондриального  $H_2O_2$ , биосенсор должен экспрессироваться непосредственно в митохондриях, так ли это? Каким образом это достигалось и как подтверждалось?
- 2) Почему при обработке клеток  $H_2O_2$  и глутаматом натрия эксперименты не были проведены в условиях, когда клетки линии SOD1-G127R оставались жизнеспособными. Если жизнеспособность этих клеток снижена настолько, что такие условия подобрать не удалось, не может ли это ограничивать использование их в качестве модели для изучения БАС?
- 3) В линии SOD1-G127R нет ни одной аллели, кодирующей полноценных белок. Представляет интерес, насколько такая ситуация отражает реальную картину, встречаются ли пациенты, у которых нет ни одной неизменной аллели гена *SOD1*.

Тем не менее, несмотря на возникшие вопросы, сделанные в работе выводы корректны и не вызывают сомнений.

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.

Тоневицкий Александр Григорьевич,  
член-корр. РАН, профессор, декан  
факультет биологии и биотехнологии,  
Национальный исследовательский университет Высшая школа экономики  
г. Москва, Вавилова ул., д. 7  
E-mail: atonevitsky@hse.ru  
Служебный телефон: +7(495)772-95-90, доб. 15093

*Решенский*

