

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Устьянцевой Елизаветы Ивановны на тему «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

Актуальность темы исследования.

Боковой амиотрофический склероз (БАС), нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью моторных нейронов, приводящей к параличу скелетной мускулатуры и диафрагмы. Для выяснения детальных механизмов развития заболевания и разработки новых терапевтических подходов необходимо иметь адекватную модель заболевания. Используемые модели не полностью отражают различные аспекты нейродегенерации. Поэтому, попытки создания такой модели всегда интересны и важны. Целью данного исследования как раз и является создание и характеристика клеточной модели БАС на основе индуцируемых плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), несущих встройку генетически-кодируемых биосенсоров перекиси водорода. Таким образом, актуальность исследования не вызывает сомнений.

Научная новизна исследований и полученных результатов.

Для достижения поставленной цели автором необходимо было выполнить 5 логически связанных друг с другом задач. В результате проведенных исследований соискателем прежде всего были созданы изогенные линии ИПСК с внесенными мутациями в гене *SOD1*. С помощью репрограммирования из мононуклеарных клеток периферической крови были получены и охарактеризованы ИПСК. На основе здоровых ИПСК, пациент-специфичных ИПСК и ИПСК с внесенными заменами впервые были получены трансгенные линии, несущие встройку генетических конструкций, предназначенных для доксициклин-управляемой экспрессии (Tet-On) биосенсоров перекиси водорода в цитоплазме и митохондриях. Для получения конструкций был использован современный метод генетического редактирования CRISPR/Cas9. Автором показано, что одной копии биосенсора, встроенной в геном было достаточно для экспрессии на уровне, оптимальном для детекции специфического сигнала. Принципиально важно, что при необходимости такая система может быть дополнена биосенсорами других клеточных процессов, позволив расширить спектр информации, получаемой от данной модели. Далее была проведена направленная дифференцировка ИПСК в спинальные моторные нейроны, которые были детально изучены. Так, автором проведен морфометрический анализ моторных нейронов с внесенными в ген *SOD1* мутациями, который показал связь между средней длиной аксональных отростков и агрессивным характером мутаций. Внесенные в ген *SOD1* замены по-разному влияют на функционирование моторных нейронов, что согласуется с различиями в клинической картине, к которой эти мутации приводят. Встройка последовательностей биосенсоров перекиси водорода в цитоплазме и митохондриях клеток дала возможность исследовать полученные клеточные модели с точки зрения проявлений окислительного стресса, как одного из основных маркеров нейродегенерации. Необходимо отметить высокий методологический уровень исследования. Полученные автором данные суммированы в четырех статьях,

опубликованных в международных и отечественных журналах входящих в список ВАК и одной главе включенной в коллективную монографию.

Достоверность результатов и обоснованность выводов.

По результатам работы сформулировано 6 выводов, которые четко обоснованы и логично вытекают из описания проведенных экспериментов. Изложенные в диссертации научные результаты получены либо лично соискателем, либо в соавторстве с коллегами. Однако, вклад автора в представленных публикациях является ведущим. Она первый автор в 4х из 5 работ. Публикации результатов в известных журналах подтверждают их высокий научный уровень.

Теоретическая и практическая значимость исследования.

Значимость полученных результатов прежде всего заключается в успешном создании клеточной модели БАС содержащей генетически-кодируемые биосенсоры, которая дала возможность исследовать некоторые функции моторных нейронов. Важно также то, что данный методологический подход может быть использован для создания клеточных моделей других заболеваний.

Заключение.

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.

Животовский Борис Давидович
Руководитель Лаборатории исследования механизмов апоптоза,
Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова,
доктор биологических наук, профессор
Лауреат Государственной Премии СССР и Премии Рене Декарта.
Ломоносовский пр. 27/1, Москва 119992, Россия
E.mail: Boris.Zhivotovsky@ki.se
Тел: +79854584525

2 сентября 2021 г.

Подпись профессора Б.Д. Животовского заверяю:

Ученый секретарь
Факультета фундаментальной медицины
Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова,

Тарасова Елена Владимировна

