

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Живень Марии Константиновны «Модуляция экспрессии гена HIF-2 $\alpha$  в плюрипотентных стволовых клетках человека с использованием системы CRISPR/Cas9», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика

Актуальность исследования не вызывает сомнения и обусловлена тем, что в развитии онкологических и ишемических заболеваний играет большую роль ангиогенез и его регулятор - фактор, индуцируемый гипоксией 2 $\alpha$  (HIF-2 $\alpha$ ), экспрессия которого приводит к изменению активности ряда генов, участвующих в адаптации клеток к гипоксическим условиям. HIF-2 $\alpha$  активирует каскад эндотелиальных факторов роста, что стимулирует процессы ангиогенеза: миграцию и пролиферацию сосудистого эндотелия. Диссертационная работа Живень Марии Константиновны как раз и посвящена этому актуальному направлению, в частности, получению генетически модифицированных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) человека со стабильной экспрессией HIF-2 $\alpha$ , исследованию влияния его активации на плюрипотентные свойства и эффективность мезодермальной и эндотелиальной дифференцировки.

Исследование выполнено на высоком методическом уровне с помощью традиционных и современных методов, с использованием достаточного количества экспериментального материала. Статистическая обработка полученных результатов проведена корректно. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Автор логично сформулировал последовательность задач, решение которых обеспечило достижение цели диссертационного исследования. Новизна полученных результатов не вызывает сомнений. В данной работе впервые использовали ЭСК человека в качестве модели для изучения механизмов HIF-сигнального пути. Кроме того, впервые было показано влияние стабильной экспрессии HIF-2 $\alpha$  на эффективность эндотелиальной дифференцировки и получение эндотелиальных клеток с повышенными ангиогенными свойствами.

Диссертантом представлены данные о получении генетически модифицированных линий ЭСК со стабильной экспрессией HIF-2 $\alpha$ . С помощью ПЦР в реальном времени и иммунофлуоресцентного окрашивания показано сохранение плюрипотентных свойств полученных линий ЭСК. Автором показано, что в исследуемых субклонах достоверно повышается экспрессия HIF-2 $\alpha$ . Кроме того, в работе подобраны оптимальные референсные гены, необходимые для анализа ЭСК человека в гипоксических условиях. Данный

результат имеет важное значение, поскольку ранее отсутствовала подробная информация. Также в работе впервые было показано, что повышение экспрессии HIF-2 $\alpha$  путем делеции участка EIF3e в ЭСК человека приводит к повышению уровня экспрессии Vrchyury в дифференцированных мезодермальных предшественниках, что свидетельствует о повышении эффективности мезодермальной дифференцировки. И очень важный результат, показанный автором свидетельствует о том, что эндотелиальные производные со стабильной экспрессией HIF-2 $\alpha$  обладают повышенным ангиогенным потенциалом in vitro по сравнению с дифференцированными эндотелиальными производными исходных линий.

Автореферат достаточно полно отображает полученные результаты исследования, проведенные на высоком методическом уровне. Выводы хорошо сформулированы, конкретны. Результаты работы опубликованы в 3 статьях в отечественных и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК, а также представлены на профильных научных конференциях.

Практическая значимость результатов исследования несомненна, поскольку полученные результаты вносят вклад в понимание фундаментальных молекулярных механизмов HIF-зависимого ангиогенеза, расширяют представления о сигнальных каскадах, вовлекаемых при активации HIFs. Кроме того, полученные данные важны для разработки подходов модуляции экспрессии HIFs для терапевтического ангиогенеза и лечения ряда онкологических заболеваний.

Таким образом, диссертационная работа Живень Марии Константиновны «Модуляция экспрессии гена HIF-2 $\alpha$  в плюрипотентных стволовых клетках человека с использованием системы CRISPR/Cas9», по актуальности, новизне, полученным результатам является законченной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (Положение о присуждении ученых степеней, утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации 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), а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Заведующая лабораторией  
клеточных технологий НИИКЭЛ филиал  
ФИЦ ИЦИГ СО РАН  
доктор медицинских наук  
Повещенко Ольга Владимировна  
630117, Россия, г.Новосибирск,

Повещенко Ольга Владимировна



630117, Россия, г.Новосибирск,  
ул. Тимакова, 2,  
тел. (383) 333-64-09,  
<http://nikelsoramn.ru/>

E-mail: [lymphology@niikel.ru](mailto:lymphology@niikel.ru)

Доктор медицинских наук по специальности  
03.03.04 – Клеточная биология, цитология,  
гистология (медицинские науки)

Дата 24 сентября 2021

Подпись д.м.н. Повещенко О.В. заверяю

Ученый секретарь

НИИКЭЛ – филиал ИИЦ СО РАН

к.б.н



Соловьева Анастасия Олеговна

вх 2171/108  
20.10.2021