

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Живень Марии Константиновны «Модуляция экспрессии *HIF2A* в плюрипотентных стволовых клетках человека с использованием системы CRISPR/Cas9», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика

Лечение ишемических состояний (инфаркта миокарда или ишемических нарушений нижних конечностей) остается актуальной задачей в связи с широким распространением этих состояний из-за атеросклероза. Достижения современной медицины привели к тому, что за последние десятилетия смертность от инфаркта миокарда прогрессивно снижается. Немаловажное значение в лечении ишемических состояний имеют и российские разработки. Например, единственный на сегодняшний день разработанный в России геннотерапевтический препарат Неоваскулген усиливает ангиогенез при ишемии нижних конечностей и увеличивает дистанцию безболевого ходьбы у пролеченных пациентов. Между тем, достижения молекулярной генетики и появление новых методов манипуляций с геномами, позволяют создать принципиально новые более совершенные методы и технологии лечения ишемических состояний. Таким образом, выбранная диссертантом тема представляет интерес не только для специалистов в области генетических технологий, но и для сосудистых хирургов, кардиологов и врачей смежных специальностей.

Методы геномного редактирования, основным из которых является CRISPR-Cas9, позволяют вносить довольно широкий перечень изменений в геном, большинство из которых способно сохраняться в дочерних клетках за счет необратимости изменений ДНК. Помимо коррекции мутаций в генах, приводящих к наследственным заболеваниям, метод позволяет регулировать экспрессию генов. Эта регуляция может быть временной (с использованием модификаций CRISPRa или CRISPRi) или постоянной, как было предложено в данной работе.

Диссертантом предложен способ выключения (нокаутирования) гена *EIF3E* путем внесения делеции в его промоторную область. Как показано в работе, этот метод, действительно, позволяет снизить экспрессию регулируемого гена *EIF3E*, в результате чего повышается экспрессия зависимых от него факторов, индуцируемых гипоксией *HIF1A* и *HIF2A*, в нормоксических условиях культивирования. Работа проведена на эмбриональных стволовых клетках (ЭСК) и показано, что нокаутирование гена *EIF3E* не только не приводит к нарушению плюрипотентности, но и промотирует ЭСК к дифференцировке в мезодермальном направлении. В эндотелиальных клетках, полученных из генетически модифицированных ЭСК, продемонстрировано сохранение повышенной экспрессии *HIF1A* и *HIF2A*, а также повышенный уровень экспрессии проангиогенных факторов.

Автореферат написан доступным языком и снабжен необходимыми иллюстрациями, делающими проведенную работу понятной и наглядной. Используемые в работе методы представляются адекватными поставленным задачам. Кроме того, заслуживает внимания факт использования подтверждающих методов анализа, например, оценка экспрессии как на уровне мРНК, так и на уровне белка, что существенно повышает научную значимость проведенной работы. Представленные в работе исследования достоверны, выводы обоснованы.

Работа, с одной стороны, носит фундаментальный характер, раскрывающий сигнальные каскады, вовлекаемые при активации факторов, индуцируемых гипоксией. С

другой стороны, несомненен и прикладной результат – отработка протокола получения клеточного трансплантата для лечения ишемических поражений.

Диссертант опубликовал три статьи по теме работы в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук. Одна из этих статей опубликована в высокорейтинговом журнале *Journal of Translational Medicine*.

Все вышеуказанное свидетельствует о том, что диссертационная работа Живень Марии Константиновны «Модуляция экспрессии *HIF2A* в плюрипотентных стволовых клетках человека с использованием системы CRISPR/Cas9» по своей актуальности, новизне, объему проведенных исследований является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 1.5.7. – Генетика.

08 октября 2021 года

Заведующая лабораторией редактирования генома
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения
«Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова»,
кандидат медицинских наук


Смирнихина Светлана Анатольевна

Подпись Смирнихиной С.А. заверяю
ученый секретарь Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова»,
кандидат медицинских наук




Воронина Екатерина Сергеевна

Сведения о составителе отзыва:

Смирнихина Светлана Анатольевна

кандидат медицинских наук по специальности 03.02.07 – генетика

Должность: заведующая лабораторией редактирования генома

Место работы: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Почтовый адрес: 115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

Тел: +7(499)-324-35-79

e-mail: smirnikhinas@gmail.com