

Отзыв

на автореферат диссертации **Ким Дарьи Вячеславовны** «Получение и характеристика линий клеток человека, дефицитных по генам эксцизионной репарации оснований ДНК, с помощью системы CRISPR/Cas9», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Исследование, проведенное Дарьей Вячеславовной, имеет огромное значение для развития молекулярной биологии и понимания основ работы систем репарации в клетках человека. Система эксцизионной репарации оснований ДНК (BER) играет ключевую роль в поддержании целостности генетического материала клетки. Она защищает ДНК от окислительных повреждений (8-оксогуанин), а также апури-апиримидиновых сайтов. Нарушения в этой системе ведут к серьезным патологиям, таким как онкологические и нейродегенеративные заболевания.

Для изучения основ работы молекулярных каскадов этой системы репарации используют нокаутные мышинные и клеточные модели. Однако все существующие модельные системы несовершенны: они получены на разных клеточных линиях, нокауты проведены не для всех генов системы BER, а в случае живых организмов наблюдается высокая эмбриональная смертность. В связи с этим получение и характеристики клеточных линий, дефицитных по генам системы BER человека, представляется крайне актуальной задачей для фундаментальной науки, а также для прикладных исследований в области фармацевтической промышленности.

Автором была получена панель клеточных линий, дефицитных по основным белкам системы BER, с помощью системы CRISPR/Cas9. Важно заметить, что на момент начала работы не существовало клеточных линий человека, дефицитных по гену *APEX1*. В автореферате Ким Д.В. приводит детальную схему получения нокаутных клеточных линий, а также полную

характеристику модифицированных локусов во всех полученных клонах. Далее автор обсуждает изменения в эффективности репарации BER в полученных модельных клеточных линиях.

Интересно, что при потере *APEX1* происходит компенсаторное увеличение экспрессии генов ДНК-гликозилаз. Автор предполагает, что это наблюдение говорит об устойчивости пути BER к изменениям экспрессии отдельных его компонентов и возможности к точной регуляции процессов репарации ДНК.

Это предположение автор подтверждает в последующем анализе модифицированных клеточных линий. При оценке эффективности системы BER в клеточных экстрактах 293FT *APEX1^{KO}* автором показано отсутствие расщепления альдегидного АП-сайта и его тетрагидрофуранового аналога. Для клеток с нокаутом гена *APEX1* был характерен повышенный уровень спонтанно образующихся АП-сайтов в геномной ДНК. Однако жизненный цикл у таких клеток не был затронут, а также не наблюдалось морфологических изменений относительно клеток дикого типа. В качестве альтернативного пути репарации, который активируется в отсутствие белка *APEX1*, автор рассматривает участие фермента *NTHL1* – ДНК-гликозилазы, удаляющей окисленные пиримидиновые основания.

Работа Дарьи Вячеславовны выполнена на высоком профессиональном уровне и представляет собой законченный научный труд. Полученные научные результаты несомненно будут иметь важное значение для понимания механизмов поддержания целостности ДНК в живых клетках.

Автореферат написан в традиционном стиле, отличается четкой и лаконичной структурой, обладает достаточным количеством иллюстративного материала. В тексте полностью отражены полученные результаты. Выводы точно сформулированы и соответствуют поставленным целям и задачам.

Таким образом, на основании автореферата диссертация Ким Д.В. «Получение и характеристика линий клеток человека, дефицитных по генам эксцизионной репарации оснований ДНК, с помощью системы CRISPR/Cas9» соответствует требованиям, установленным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор Ким Д.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – молекулярная биология.

Научный сотрудник

ООО «ЕВРОГЕН ЛАБ»,

кандидат биологических наук



Грищенко Ирина Владимировна

Адрес: 117997 г.Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.16/10, корп. 15

тел.: +7 (495) 784-70-86 доб. 760

e-mail: grishchenko@evrogen.ru

Я, Грищенко Ирина Владимировна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой Ким Дарьи Вячеславовны



Подпись Грищенко И.В. заверяю:

Генеральный директор

ООО «Евроген Лаб»



Панфилов Тимофей Викторович