

ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Прохоровой Дарьи Вадимовны «Влияние модифицированных нуклеотидов в составе направляющих РНК на активность системы CRISPR/Cas9», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 — биохимия.

Диссертационная работа Прохоровой Дарьи Вадимовны посвящена систематическому исследованию влияния модификаций нуклеиновых кислот в структуре направляющих РНК на активность системы CRISPR/Cas9.

Появление системы CRISPR/Cas9 привело к возможности направленного изменения генома. Значительное число исследований в мире посвящено поиску способов увеличения эффективности и точности геномного редактирования. Совершенствование систем геномного редактирования идет по пути инженерии как Cas9 и других адресуемых нуклеаз, так и связанных с ними РНК: синтезируемой с CRISPR-матрицы направляющей РНК (crРНК), транскрибирующей CRISPR-РНК (tracrРНК), или их химерной формы — единой направляющей РНК (sgРНК). В области нуклеиновых кислот, попытки улучшения этой части системы связаны как с оптимизацией их последовательности, так и с их химической природой. На сегодняшний день в литературе представлены разнообразные химические модификации crРНК и sgРНК, повышающие устойчивость к расщеплению нуклеазами, стабилизирующие гибридизацию с мишенью и улучшающие проникновение в клетки.

В рамках работы Прохоровой Д.В. показано, что комплексы белка Cas9 с направляющими РНК, содержащими модифицированные нуклеотидные остатки, поддерживают геномное редактирование как *in vitro*, так и в культивируемых клетках человека. Кроме того, показано увеличение специфичности системы CRISPR/Cas9 при включении данных модификаций в направляющие РНК. Показано, что введение фосфорил гуанидиновых (ФГ) модификаций в состав направляющих РНК позволяют контролировать активность и значительно повышать специфичность системы CRISPR/Cas9 *in vitro*.

Д. В. Прохорова в своей работе активно и грамотно использует необходимые методы биохимии и молекулярной биологии. Полученные автором данные и выводы достоверны, базируются на достаточном количестве повторных измерений.

В целом, работа представляет значительный интерес для научных и коммерческих организаций.

Тем не менее, к работе имеются замечания и пожелания.

- 1) В автореферате недостаточно обоснован выбор исследуемых модификаций.
- 2) Факты, приведенные в автореферате, о влиянии ФГ-групп в 4-ом положении с 5'-конца crRNA на активность системы CRISPR/Cas9 никак не объяснен.

Данные замечания не снижают общей высокой оценки работы. Работа представляет собой законченное исследование, имеющее большой потенциал для развития в областях биоорганической химии, молекулярной биологии и биотехнологии. Автореферат диссертации Прохоровой Д.В. написан хорошим языком, полученные выводы закономерно следуют из экспериментальных данных. Материал диссертационной работы в полной мере отражен в публикациях в ведущих рецензируемых научных журналах.

Таким образом, диссертационная работа Прохоровой Дарьи Вадимовны «Влияние модифицированных нуклеотидов в составе направляющих РНК на активность системы CRISPR/Cas9» отвечает критериям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а её автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Заведующая лабораторией
биомедицинской химии, старший
научный сотрудник Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Институт
химической биологии и
фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской
академии наук, к.х.н.

Елена Владимировна
Дмитриенко

Подпись

Дата

Email: elena.dmitrienko@niboch.nsc.ru

26.02.2025

Подпись к.х.н., заведующей лабораторией биомедицинской химии ИХБФМ СО
РАН Дмитриенко Елены Владимировны заверяю:
Ученый секретарь
ИХБФМ СО РАН,



Евгения Борисовна Логащенко