

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”

Технология направленного редактирования генома по механизму CRISPR/Cas с момента своего открытия проделала огромный путь и продолжает совершенствоваться усилиями большого количества научных групп по всему миру. Как и в случае с другими терапевтическими применениями различных олигонуклеотидных препаратов, дальнейшее развитие данной технологии безусловно связано с осознанным применением различных химических модификаций при дизайне структуры используемых олигонуклеотидных компонентов. Диссертационная работа Прохоровой Д. В. посвящена исследованию влияния как применения минорных азотистых оснований (m6A, Ψ, m5C и m1Ψ), так и использованию изменённых межнуклеотидных фосфатных фрагментов в виде фосфорилгуанидиновых модификаций в структуре направляющих РНК на активность системы CRISPR/Cas9.

Автором работы, изложенной в автореферате, выполнено систематическое научное исследование. В рамках настоящей работы были получены и охарактеризованы различные модифицированные направляющие РНК, в том числе, не уступающие по своей активности своим природным аналогам в системе CRISPR/Cas9. В частности, было показано успешное применение минорных азотистых оснований в sgРНК для повышения точности системы CRISPR/Cas9 *in vitro* по сравнению с немодифицированными аналогами sgРНК. При дизайне химерных sgРНК были впервые исследовано влияние введение объемных электронейтральных модификаций межнуклеотидного фосфата фосфорилгуанидинов и исследован их эффект на систему CRISPR/Cas9. В результате было обнаружено, что РАМ-дистальная область на 5'-конце sgРНК, за исключением 4-ого положения, наиболее толерантна для введения ФГ-модификаций. Кроме того, было показано что комплексы белка Cas9 с ФГ-модифицированными химерными sgРНК значительно повышают точность расщепления ДНК-субстратов по сравнению с sgРНК, содержащими тиофосфатные и 2'-F группы. На культивируемых клетках человека было продемонстрирована эффективность геномного редактирования разработанной системы CRISPR/Cas9 содержащей химерные sgРНК. Представленные в работе результаты являются крайне важными для развития направленного изменения свойств олигонуклеотидных структур и могут быть в дальнейшем использоваться при создании усовершенствованных систем редактирования генома.

Диссертационная работа Прохоровой Д.В. выполнена на высоком профессиональном уровне. Автор подробно и профессионально обсуждает результаты и делает из них обоснованные выводы. Полученные результаты представляют большой научный и практический интерес. Результаты работы опубликованы в виде 3 статей в ведущих международных научных журналах. Автореферат даёт полное представление о диссертационной работе Прохоровой Д.В. **Работа полностью соответствует требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.** Автор диссертационной работы Прохорова Д.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности “1.5.4 – биохимия”.

Заведующий лабораторией химии нуклеиновых кислот, старший научный сотрудник
ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
кандидат химических наук, Купрюшкин Максим Сергеевич
630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8, каб. 224.
Телефон: +7 923 243 2623
e-mail: kuprummax@gmail.com.



Подпись

/ М.С. Купрюшкин

ФИО

12.02.2025

Подпись к.х.н., зав. лаборатории химии нуклеиновых кислот Купрюшкина М.С. заверяю:
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН



Подпись

/ Логашенко Евгения Борисовна

ФИО