

ОТЗЫВ

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

Большой интерес для биомедицинских исследований представляет использование технологии CRISPR/Cas9 для направленного ингибирования заданных генов, изменения эпигенетического профиля, проведения полногеномного скрининга, а также визуализации хромосом. Диссертационная работа Прохоровой Д.В. посвящена исследованию влияния модифицированных нуклеотидных остатков и остатков дезоксирибонуклеотидов с фосфорилгуанидиновыми группами в структуре направляющих РНК на активность системы CRISPR/Cas9.

Автором работы, изложенной в автореферате, выполнено завершённое научное исследование. Показано влияние модифицированных нуклеотидных остатков (m6A, m5C, Ψ и m1Ψ) и остатков дезоксирибонуклеотидов с фосфорилгуанидиновыми группами в структуре направляющих РНК на эффективность и специфичность системы CRISPR/Cas9. Выявлено, что комплексы белка Cas9 с направляющими РНК, tracrРНК и sgРНК, содержащими модифицированные нуклеотидные остатки m6A, Ψ, m5C и m1Ψ, и химерными crРНК, содержащими остатки дезоксирибонуклеотидов с фосфорилгуанидиновыми группами, расщепляют ДНК-субстраты *in vitro* с эффективностью, достигающей 95%. Наиболее критичными областями включения модификаций m6A, Ψ, m5C и m1Ψ в sgРНК является РАМ-проксимальная область спейсера, а при включении фосфорилгуанидиновых групп в химерные crРНК – четвертое положение с 5'-конца химерной crРНК. Важным достоинством работы является демонстрация принципиальной возможности использования системы CRISPR/Cas9 с направляющими sgРНК, содержащими m6A, Ψ, m5C и m1Ψ, а также ФГ-модифицированными химерными crРНК, для редактирования генов в культивируемых клетках человека.

Диссертационная работа Прохоровой Д. В. выполнена на высоком экспериментальном уровне с применением широкого набора современных биохимических методов исследования. Автор подробно и профессионально обсуждает результаты и делает из них обоснованные выводы. Полученные результаты представляют значимый научный и практический интерес, они могут использоваться организациями, где изучают и применяют системы геномного редактирования. Результаты работы опубликованы в виде 3 статей в ведущих международных научных журналах. Автореферат даёт полное представление о диссертационной работе Прохоровой Д. В. Работа полностью удовлетворяет требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении учёных степеней в Институте биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Автор диссертационной работы Прохорова Д. В. заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Доцент кафедры физиологии
Новосибирского государственного университета,
канд. биол. наук Фатьянова Алина Витальевна
630090, ул. Пирогова, д.2, ФЕН
Тел.: +7(383)3739634
E-mail: avf@fen.nsu.ru

