

Отзыв

на автореферат диссертации Костюшевой А.П. на тему: «Влияние модуляции путей репарации нуклеолитических разрывов в геноме вируса гепатита В на противовирусное действие CRISPR/Cas9», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология»

Хроническая инфекция вирусом гепатита В (ВГВ) является неизлечимым заболеванием. Не существует ни одного препарата, способного полностью удалить ВГВ из организма инфицированного человека, при этом актуальность и значимость проблемы ВГВ инфекции колоссальны, поскольку около четверти миллиарда человек страдают от хронической формы инфекции. Наличие эффективной вакцины значительно ограничивает распространение инфекции, однако даже при вакцинации у 5 из 100 человек не наступает развития эффективной серопротекции. Создание новых методов лечения, полностью устраняющих причину хронической ВГВ инфекции, необходимо для лечения сотен миллионов больных по всему миру и может стать одним из главных инструментов для достижения целей Всемирной Организации Здравоохранения по элиминации ВГВ инфекции во всем мире.

Диссертационная работа Костюшевой А.П. направлена на изучение противовирусного действия CRISPR/Cas9 совместно с низкомолекулярными соединениями, ингибиторами путей репарации двуцепочечных разрывов ДНК. Нуклеазы CRISPR/Cas9 вносят двуцепочечные разрывы в геном вируса по целевым сайтам, в результате вирусный геном может либо восстановиться без видимых повреждений, мутировать либо разрушиться в том случае, если факторы репарации инфицированной клетки будут заблокированы. С помощью анализа большого набора факторов, модулирующих активность путей репарации, и трех вариантов систем CRISPR/Cas9, Костюшевой А.П. был сделан ряд фундаментальных и практических открытий, которые, несомненно, будут иметь большое значение при дизайне противовирусных средств на основе нуклеаз CRISPR/Cas9. Во-первых, впервые было экспериментально подтверждено, что большая часть вирусных геномов

разрушается при действии нуклеаз – ранее об этом судить было невозможно, и имелись лишь косвенные свидетельства о разрушении вирусной ДНК (несоответствие между частотой мутаций в целевых сайтах и уровнем снижения ДНК вируса). Во-вторых, выяснилось, что при блокаде пути NHEJ с помощью раствора низкомолекулярного соединения NU7026 блокируется разрушение генома ВГВ, однако в сайтах целевого разрезания происходит эффективная репарация двуцепочечных разрывов с формированием сложных делеций нуклеотидов. Последнее открытие с одной стороны привносит новые сведения в особенности взаимодействия и исходы нуклеолитического разрезания ДНК с путями репарации повреждений ДНК в клетках, и с другой стороны может использоваться как тест для оценки уровней разрушения ДНК при действии нуклеаз. В-третьих, было продемонстрировано, что ни одно соединений, ранее описанных как «энхансеры» генетического редактирования, то есть факторы усиления CRISPR/Cas9, не оказывает значительного влияния на противовирусное действие нуклеаз.

Результаты работы были получены в ходе многочисленных экспериментов в ходе сложных клеточных, вирусологических и молекулярно-биологических работ, получен внушительный объем данных по секвенированию вирусных геномов, использованы десятки факторов, модулирующих факторы репарации клетки, изучено влияние этих факторов как на сам вирус, так и на действие систем нуклеаз на вирусные геномы. При действии нуклеаз снижение параметров ВГВ превышало 90%, при этом большая часть геномов разрушалась.

Диссертационная работа привела к получению результатов мирового значения, интересных для широкого круга специалистов в многочисленных областях биологических и медицинских наук. Работа проведена на высоком методическом уровне, является самостоятельным научным исследованием.

Выводы диссертации полностью соответствуют целям и задачам работы. Положения, выносимые на защиту, в полной мере отражают

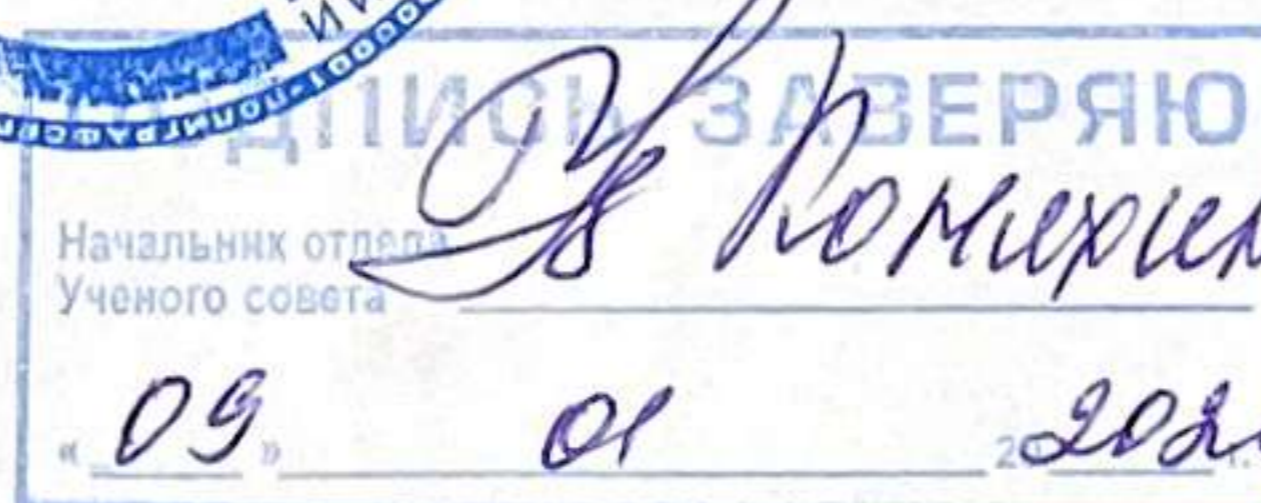
содержание работы. В автореферате подробно описаны все этапы исследования и использованные методы.

Диссертационная работа Костюшевой Анастасии Павловны является полноценной научно-квалификационной работой, в которой содержится ряд открытий фундаментального и прикладного значения. Диссертация полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г. и №748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.02.02. – «Вирусология».

профессор кафедры инфекционных болезней
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России
(Сеченовский Университет)
д.м.н., доцент



Умбетова К.Т.



Кафедра инфекционных болезней Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Индекс: 105275, город Москва, 8-ая улица Соколиной горы, дом 15.
Инфекционная клиническая больница N.2, корпус 1, тел.: 8 (499) 365-2777, e-mail: karinasara@inbox.ru.