

Отзыв

на автореферат диссертации Костюшевой Анастасии Павловны

«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»

Хронический гепатит В (ХГВ) является одной из главных проблем систем здравоохранения во всем мире. Ежегодно из более, чем 250 миллионов хронически инфицированных лиц, более 1 миллиона человек погибает вследствие прогрессирования НВ-вирусной инфекции. Системы сайт-специфических нуклеаз CRISPR/Cas9 могут разрезать геном вируса гепатита В (ВГВ) в запрограммированных участках. В результате, происходит подавление репликации вируса, связанной с образованием в сайтах разрезания мутаций со сдвигами рамок считывания. Считается, что репарация разрезанных геномов вируса с помощью клеточных механизмов является одной из причин недостаточной эффективности CRISPR/Cas9. Создание новых, более совершенных и комплексных подходов для разрушения ВГВ на основе CRISPR/Cas9 может привести к элиминации этого вируса и соответственно излечению от НВ-вирусной инфекции.

В диссертационной работе Костюшевой А.П. изучено влияние целого ряда факторов-модуляторов путей репарации двуцепочечных разрывов на действие систем CRISPR/Cas9: противовирусное и нуклеолитическое. В работе впервые изучено действие как самих факторов-модуляторов путей репарации на репликацию ВГВ, так и комбинации факторов с системами CRISPR/Cas9, их влияния на параметры НВ-инфекции, а также на исходы разрезания генома ВГВ.

Результаты и выводы диссертационной работы логично изложены и основаны на большом количестве различных экспериментальных условий (целый ряд факторов-модуляторов путей репарации – низкомолекулярные и белковые) с использованием трех вариантов систем CRISPR/Cas9 (Sp1, Sp2, Sp3) на двух моделях *in vitro*. Автору впервые удалось показать, что противовирусное действие CRISPR/Cas9 связано в первую очередь не с образованием мутаций и нарушением транскрипции ВГВ, а с разрушением основной формы внутриядерного генома ВГВ. Использование низкомолекулярного соединения NU7026 препятствует разрушению генома ВГВ под действием нуклеаз и приводит к образованию сложных делеций нуклеотидов в области разрезания. Действие NU7026 на ДНК-геном ВГВ при действии CRISPR/Cas9 можно использовать как тест для оценки разрушения ДНК ВГВ под действием нуклеаз.

Диссертационная работа Костюшевой Анастасии Павловны проведена на высоком методическом уровне и является самостоятельным научным исследованием. В процессе работы были получены уникальные данные в результате обработки большого объема экспериментальных данных,

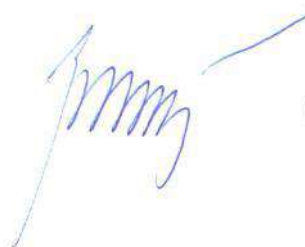
включая существенный массив данных высокопроизводительного секвенирования, что позволило сформулировать достоверные выводы о результатах исследования.

Выводы диссертационной работы полностью соответствуют сформулированной цели и задачам исследования. Положения, выносимые на защиту, в полной мере отражают содержание работы.

В автореферате описаны все методы и этапы проведенного исследования, что делает его полноценной научно-исследовательской работой, выполненной на высоком научно-методическом уровне.

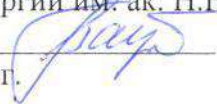
Основываясь на данных, изложенных автором в автореферате, можно заключить, что диссертационная работа Костюшевой Анастасии Павловны является научно-квалификационной работой, в рамках которой был сделан ряд открытий, связанных с действием систем нуклеаз CRISPR/Cas9 на геном ВГВ *per se* и при действии модуляторов систем репарации двуцепочечных разрывов ДНК. 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».

Доктор медицинских наук, доцент,
заместитель главного врача по
эпидемиологической работе
ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко»
Минздрава России



О.Н. Ершова

Подпись д.м.н., доцента О.Н. Ершовой заверяю.
Начальник отдела кадров ФГАУ
«НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко»
Минздрава России
«9» января 2020 г.



Г.И. Баукина

Адрес: 6125047, г. Москва, 4-ая Тверская Ямская ул., д.16, федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Телефон: 8(499) 972-85-70; Адрес электронной почты: OErshova@nsi.ru