

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Ломова Николая Андреевича на тему «Изучение механизмов образования транслокаций, ассоциированных со вторичными лейкозами, вызванными терапией ингибиторами ДНК-топоизомераз II»  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология»

Диссертация Николая Андреевича Ломова посвящена механизмам образования хромосомных перестроек, являющихся причиной вторичных лейкозов. Это заболевание представляет из себя побочный эффект от предшествующей химиотерапии и является актуальной проблемой современной медицины.

Работу можно разбить на две части. Первая часть посвящена изучению факторов, которые могут отвечать за формирование хромосомных транслокаций. Изучали транслокации, происходящие под действием ингибиторов ДНК-топоизомеразы II, в частности, этопозида. Методом FISH было показано, что под действием этопозида ген *AML1* рвется, и его разорванные аллели имеют более высокую подвижность по сравнению с интактными. Этот ген часто перестраивается при изучаемых транслокациях. Полученный результат не наблюдался при воздействии гамма-излучения. Затем провели анализ спектра пространственных контактов гена *AML1* и второго часто перестраивающегося гена — *MLL*. Анализ контактов проводили методом 4C. Такой анализ не выявил предпочтительных контактов *AML1* и *MLL* с их генами-партнерами по транслокациям. Из первой части работы сделан вывод, что транслокации при вторичных лейкозах определяются не пространственной предрасположенностью генов к перестройкам, а скорее особенностью разрывов, вызванных этопозидом — повышенной подвижностью концов таких разрывов в ядре.

Вторая часть работы посвящена созданию клеточной модели, позволяющей лучше изучить механизмы формирования транслокаций. Обычный для обнаружения транслокаций метод FISH — весьма трудоемкий и не позволяет достаточно точно определять долю клеток с транслокацией. Чтобы детектировать транслокации с помощью ПЦР, они должны происходить между известными с точностью до нуклеотида локусами, чего не бывает при действии этопозида. Поэтому в работе был использован оригинальный подход: получена культура клеток, в геном которых встроена система CRISPR/Cas, находящаяся под индуцируемым промотором. При индукции системы вносятся разрывы в локусы *AML1* и *ETO*, и во многих клетках такой популяции формируется транслокация *AML1-ETO*. Частоту транслокации определяли с помощью ПЦР с TaqMan-зондом. Была подтверждена возможность клеточной модели формировать транслокацию *AML1-ETO*, как и возможность повышать частоту транслокации при индукции системы и одновременной обработке клеток ингибитором белка репарации DNA-PKcs.

Полученная клеточная модель может выступать в роли тест-системы, определяющей влияние различных соединений на образование транслокаций. Так, в работе протестировали 8 химиотерапевтических препаратов. Было показано, что один из таких препаратов метотрексат повышает частоту формирования транслокации *AML1-ETO*. Этот результат, при соответствующих дополнительных исследованиях, является поводом изменить протоколы лечения с использованием метотрексата. Наконец, в ходе работы был разработан метод проверки эффективности инструментов редактирования генома, что имеет очевидное прикладное значение.

Список опубликованных по теме статей, а также патент, подтверждают научную и практическую ценность работы. Диссертация полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 г., в редакции Постановления Правительства РФ от 11 сентября 2011 г. Автор диссертации Ломов Николай Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

Дата подписания

  
20.03.2023

Заведующий лабораторией фармакогеномики  
Института химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН  
д.б.н. Филипенко Максим Леонидович

e-mail – mlfilipenko@gamil.com

рабочий адрес – 630090 Новосибирск пр.Лаврентьева 8

рабочий телефон - +7 383 3635170

Подпись сотрудника ИХБФМ СО РАН  
М.Л. Филипенко удостоверяю:  
руководитель/кадровый работник



И.О. Фамилия

**Е.Б. Логашенко**