

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы
Васильева Руслана Алексеевича на тему

«Направленная модификация геномов с помощью новых эндонуклеаз CRISPR/Cas V типа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология»

Диссертационная работа Васильева Руслана Алексеевича посвящена изучению активности ДНК эндонуклеазы RbCas12a, компонента системы CRISPR/Cas бактерии *Ruminococcus bromii*. К настоящему времени открыто и охарактеризовано довольно много ферментов системы CRISPR/Cas различных микроорганизмов. Открытие CRISPR/Cas системы и характеристика механизма работы ее компонентов позволили начать разработки в области геномного редактирования на совершенно ином уровне по сравнению с тем, что было доступно ранее, открывая уникальные возможности в области генотерапии и полногеномных исследований. Значимость этого открытия для человечества иллюстрирует недавнее присвоение Нобелевской премии в области физиологии и медицины авторам. Работы в области идентификации и характеристики новых компонентов CRISPR/Cas системы помимо чисто исследовательского интереса имеют четкий практический смысл: ферменты с новыми свойствами позволяют расширять набор доступного инструментария, за счет чего удастся решать существующие проблемы в области редактирования геномов и, тем самым расширять возможности этой технологии для исследований и медицинского применения. Актуальность представленной к защите работы, таким образом, не вызывает сомнений.

Автореферат диссертации Васильева Р.А. построен по классической схеме. Оценивается актуальность и степень разработанности проблемы. Сформулированы основные положения, выносимые на защиту, цель и задачи работы, приводятся основные результаты, полученные в ходе экспериментальной работы, оценивается их научная новизна. Охарактеризован личный вклад автора и публикационная активность по теме диссертации.

Работа выглядит цельной: автору удалось идентифицировать последовательность новой Cas-нуклеазы RbCas12a, наработать соответствующий рекомбинантный белок в гетерологичной системе и охарактеризовать основные свойства данного фермента, важные с точки зрения возможностей использования для целей редактирования геномов различных эукариот. Автор приводит результаты определения температурного оптимума работы RbCas12a, кофактор-зависимости фермента, последовательности РАМ, узнаваемой белком, влияние структуры загружаемой РНК на функционирование фермента, определяющие возможности практического использования нуклеазы. Исследована активность RbCas12a в отношении оц-ДНК. Часть свойств фермента исследована в сравнении с гомологичными нуклеазами того же типа из других микроорганизмов.

Полученные автором результаты свидетельствуют о высокой активности фермента в удобных для практического применения в эукариотических клетках условиях. В заключительной части автором прямо продемонстрирована возможность использования RbCas12a для внесения направленной делеции гена *DNMT1* линии эмбриональных клеток почки человека HEK293T. Вместе с тем, показанная активность фермента в отношении

оц-ДНК вызывает опасения относительно возможных «побочных» эффектов при применении, обуславливая необходимость более подробного изучения и поиска возможностей ограничения такой активности.

В целом, работа выполнена на современном уровне, новизна и потенциальная практическая значимость результатов очевидны. Большой объем экспериментальной работы, выполненной автором, свидетельствует о высокой квалификации как экспериментатора. Выводы соответствуют приведенным результатам. Работа оформлена на хорошем уровне, написана хорошим научным языком и легко воспринимается.

Судя по списку опубликованных работ, результаты были опубликованы в трех статьях в рецензируемых научных журналах, а также представлены на одной конференции. Последнее вызывает некоторое удивление, на мой взгляд полученные результаты заслуживают более широкого представления. Однако, по-видимому, малая представленность на конференциях связана с периодом пандемии Covid19, в связи с которой многие конференции были отменены или сильно затруднялось участие в них.

По моему мнению, диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым к данному типу работ Диссертационным советом МГУ им. М.В. Ломоносова (МГУ.015.4(МГУ.03.01)). Считаю, что соискатель Васильев Руслан Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

02.11.2022

к.б.н.,
старший научный сотрудник
лаборатории сравнительной
и функциональной геномики



Звягин Иван Владимирович

Государственный научный центр Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. Акад. М.М. Шемфкина и Ю.А. Осчинникова Российской академии наук

E-mail: izvyagin@ibch.ru