

## ОТЗЫВ

рецензента на выпускную диссертационную работу бакалавра

Елену Юрьевну КУЗЬМИНУ

**«Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток для геннотерапевтической модели мыши», представляемую к защите.**

За последние пять лет произошла революция в биомедицине, причиной которой стало появление подходов для направленного редактирования генома. Стало возможно трансфецировать клетки различными последовательностями, сохраняя модификации в череде поколений, репрограммировать клетки, направляя их дифференцировку в разные стороны. Все это позволило говорить о возможности лечения генетически детерминированных заболеваний.

Само по себе репрограммирование клеток, ставшее возможным после открытия «генов плюрипотентности» - OSKM (Oct4, Sox2, Klf4 и c-Myc) - весьма трудоемкий процесс, требующий не только культивирования клеток, но знаний основ генной инженерии. Ведь для терапии требуется не только индуцировать клетки, но внести в них копию «нормального» гена интереса и стабильно экспрессировать конструкцию в клетке.

Гемофилия А – генетически детерминированный дефект свертывания крови, вызванный мутациями в гене фактора свёртываемости крови VIII (FVIII). Для лечения данного заболевания не существует другого пути, кроме как направленная генетическая терапия. Именно разработке такого подхода посвящена работа Елены Юрьевны.

В весьма кратком «Введении» Елена формулирует «Цель» и «Задачи» - получить плюрипотентные стволовые клетки (иПС) из первичных фибробластов мыши, мутантных по гену фактора VIII и проверить их.

«Обзор литературы», несомненно, служит украшением работы. В первой части автор подробно рассказывает про получение индуцированных плюрипотентных клеток. Раздел охватывает все основные способы и историю получения таких клеток. Из раздела видно, что автор глубоко освоил эту технику. Раздел приятно читать, а информация заключенная там, может послужить отличной основой для изучения проблематики. Автор цитирует все основные работы в данной области. Вторая часть «Обзор литературы» посвящена собственно гемофилии А, занимает лишь три страницы, однако содержит всю необходимую информацию.

Видно, что основной задачей Елены Юрьевны стало именно получение иПС, что не следует из «Введения», которое начинается именно с описания гемофилии А. Глава

«Материалы и методы» подтверждает, что Автор занимается именно получением иПС. В целом раздел «Материалы и методы» показывает, что Елена освоила целый ряд сложных современных методов и описала их доступно и подробно. При прочтении этого раздела становится очевидно, что, Елена самостоятельно провела все описанные процедуры.

Результаты согласуются с «Материалами и методы» и «Обзор литературы». Автор подробно и с достаточным иллюстративным материалом показывает процесс получения иПС и тестирование полученных иПС клонов на формирование тератом. Глава написана грамотно, однако в разделе «Анализ экспрессии Oct4 в полученных иПС FVIII-/- клетках» стоило бы привести результаты количественной ПЦР или ПЦР-РВ, не только иммуноцитохимического окрашивания (Рис. 5).

Раздел «Обсуждение» полностью подтверждает впечатление о том, что Елену Юрьевну в первую очередь интересовало получение иПС. В нем дискутируется вопрос о низкой эффективности получения иПС в настоящей работе и о том, как можно её повысить. Раздел скорее напоминает главу обзора литературы, в которой приведены некоторые собственные результаты. Кажется, этот раздел можно было бы объединить с «Результатами».

В целом, работа Елены оформлена аккуратно, снабжена удачно подобранными рисунками с подробными легендами, что еще усиливает общее положительное впечатление от квалификационной выпускной работы бакалавра Елены Юрьевны.

Квалификационная выпускная работа бакалавра Елены Юрьевны Кузьминой является самостоятельным законченным научно-методическим исследованием. Выводы сделаны аккуратно и полностью соответствуют полученным результатам.

Квалификационная выпускная работа Елены Юрьевны Кузьминой, безусловно, заслуживает оценки «ОТЛИЧНО», а ее автор - искомого звания бакалавра биологии.

Ассистент кафедры

Цитологии и Гистологии СПбГУ

к.б.н. Н.К. Галактионов

