

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

Савченко Ренаты Ренатовны

«Роль генов *ADAMTS1* и *THBS1* в радиационно-индуцированном ответе

соматических клеток человека на повреждение ДНК»,

представленной на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика

Воздействие ионизирующего излучения на организм человека вызывает значительные повреждения генетического материала, приводящие к индукции мутаций и гибели клеток. Способность восстанавливать поврежденные молекулы ДНК, обеспечивать нормальное функционирование сигнальных путей, контрольных точек клеточного цикла и запуск программы апоптоза варьирует на уровне различных типов клеток, тканей и целых организмов, составляя феномен индивидуальной радиочувствительности. Поиск генов, вовлеченных в формирование данного феномена, является актуальной научно-практической задачей современной радиационной генетики и медицины. Результаты исследований отечественных и зарубежных авторов показали, что повышенная радиочувствительность связана с нарушением работы систем репарации ДНК, антиоксидантной защиты и метаболизма ксенобиотиков, поэтому долгое время основные усилия по поиску генетической основы индивидуальной радиочувствительности были направлены на идентификацию мутаций и полиморфных вариантов в кандидатных генах, связанных с функционированием данных систем. В последние годы установлено, что радиочувствительность может быть связана и с другими генами, не имеющими прямого отношения к репарации ДНК, но выполняющими различные сигнальные функции (*FSHR*, *TANC1*, *IFNK*, *SLC36A4*, *KCND3* и др.). Накаплены данные, свидетельствующие о том, что на радиочувствительность клеток могут влиять компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ). Более того, некоторые исследователи считают, что изучение ВКМ в контексте персональной чувствительности к воздействию ионизирующего излучения, является перспективным направлением радиобиологии. Таким образом, накопленные данные свидетельствуют о влиянии компонентов ВКМ на радиочувствительность клеток, однако возможные участники и механизмы реализации такого влияния на

сегодняшний день изучены крайне недостаточно. В силу этого, диссертационная работа Савченко Ренаты Ренатовны, посвященная изучению влияния дифференциальной экспрессии генов *ADAMTS1* и *THBS1* на формирование радиационно-индуцированного ответа соматических клеток человека на повреждение ДНК, является своевременным и актуальным исследованием.

В рамках диссертационной работы Савченко Р.Р. на первом этапе исследования с помощью технологии редактирования генома CRISPR/Cas9 и плазмидной трансфекции на основе опухолевой клеточной линии HeLa были получены модели для изучения радиационно-индуцированных эффектов нокаута и сверхэкспрессии *ADAMTS1* и *THBS1*. На втором этапе исследования после воздействия ионизирующего γ -излучения ^{60}Co в диапазоне доз 2-8 Гр в созданных клеточных моделях проведены анализ клональной выживаемости (на фоне нокаута генов) и анализ уровня фокусов белков репарации ДНК с помощью иммуноокрашивания и микроядерный тест. Далее, с помощью экспрессионных микрочипов SurePrint G3 Human Gene Expression v2 8×60K проведен сравнительный анализ изменения транскрипционного профиля генов в ответ на воздействие ионизирующего излучения на фоне нокаута *ADAMTS1* и *THBS1*. Экспрессия дифференциально экспрессирующихся генов была выборочно верифицирована с помощью ПЦР в реальном времени. Для проверки сохранения наблюдаемых радиобиологических эффектов дифференциальной экспрессии *ADAMTS1* и *THBS1* в нормальных клетках организма и для оценить возможности использования изучаемых генов в качестве экспрессионных маркеров, на следующем этапе работы был проведен анализ корреляции экспрессии изучаемых генов с эндогенным уровнем фокусов белков репарации ДНК и частотой радиационно-индуцированных микроядер в лимфоцитах периферической крови здоровых индивидов.

В результате проведенного диссертационного исследования автором впервые доказано, что гены *ADAMTS1* и *THBS1* влияют на радиационно-индуцированный ответ на повреждение ДНК и клоногенную способность опухолевых клеток. При этом в первые установлено, что нокаут этих генов в опухолевой клеточной линии HeLa приводит к изменению транскрипционного профиля генов, связанных с радиационно-индуцированным ответом, влияет на жизнеспособность клеток. Так нокаут гена *ADAMTS1* приводит к изменению экспрес-

сии 12 генов до облучения и 16 генов после облучения, а нокаут гена *THBS1* – к изменению экспрессии 3 генов до облучения и 3 генов после облучения. Среди выявленных дифференциально экспрессирующихся генов 53 % генов связаны с радиационно-индуцированным клеточным ответом. Достоверно установлено, что нормальная вариабельность экспрессии *ADAMTS1* и *THBS1* в лимфоцитах периферической крови человека не связана со спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и радиационно-индуцированной частотой центромеро-негативных микроядер, являющихся маркерами эффективности репарации двунитевых разрывов ДНК. Созданные автором в ходе проведенного исследования модельные системы обладают большим потенциалом для использования в дальнейших исследованиях клеточных и молекулярных механизмов формирования радиочувствительности и представляют большой интерес при разработке таргетных молекулярных ингибиторов для повышения радиочувствительности опухолевых клеток.

В целом, работа выполнена на высоком методическом уровне, с использованием современных молекулярно-генетических, молекулярно-цитогенетических и клеточных технологий, методов биоинформационного и статистического анализа, адекватных поставленным задачам и обеспечивших высокую степень достоверности полученных данных. Автором успешно решены все поставленные в работе задачи. Автореферат написан доступно, содержит таблицы и рисунки подробно и наглядно иллюстрирующие результаты исследования. Автореферат полностью отражает основные аспекты выполненной диссертационной работы, по результатам которой опубликовано 16 научных работ, среди которых четыре статьи в журналах, удовлетворяющих требованиям Высшей Аттестационной Комиссии МОН РФ для соискателей ученой степени кандидата наук. Результаты диссертационного исследования были должным образом представлены в виде устных и постерных докладов, всесторонне обсуждены на различных Всероссийских и международных научных форумах. Сделанные автором выводы логичны, аргументированы, корректны и обоснованы результатами собственного исследования и проведенного анализа.

Таким образом, анализ автореферата позволяет утверждать, что диссертационная работа Савченко Ренаты Ренатовны «Роль генов *ADAMTS1* и *THBS1* в радиационно-индуцированном ответе соматических клеток человека на повреждение

ДНК» является успешно проведенным научно-квалификационным исследованием, направленным на решение актуальной научной задачи, имеет фундаментальное и практическое значение, существенно расширяет знания по генетике человека, онкологии и радиационной медицине, полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 с последующими редакциями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - Генетика.

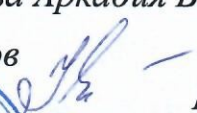
Согласен на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных в работе диссертационного совета 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Заведующий областной научно-практической лабораторией
ДНК-диагностики государственного бюджетного учреждения
здравоохранения Новосибирской области
«Городская клиническая больница №1»,
Заслуженный работник здравоохранения Российской Федерации,
кандидат медицинских наук, чл.-корр. РАЕН
e-mail: mab2000@mail.ru



Масленников
Аркадий Борисович

Данные об организации:
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница №1»
630047, Новосибирск, Залесского д.6
Тел./факс: 8-383-226-07-02
Сайт: <http://www.gkb1nsk.ru/>
e-mail: gkb1@ngs.ru

Подпись Масленникова Аркадия Борисовича заверяю
Начальник отдела кадров
ГБУЗ НСО «ГКБ №1»  Н.Ф. Прибыльцова
«14» ноября 2022 г.

