

**Отзыв официального оппонента, кандидата химических наук
Новопашиной Дарьи Сергеевны, на диссертационную работу
Брылёва Владимира Анатольевича «Разработка подходов к синтезу разветвлённых
функциональных олигонуклеотидных конъюгатов», представленную к защите на
соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
1.4.9. – «биоорганическая химия»**

Актуальность темы исследования

Использование синтетических олигонуклеотидных конструкций в различных областях современной молекулярной биологии, генетической инженерии, диагностики и фундаментальной медицины открывает новые возможности для получения научных знаний, а также для разработки диагностических систем и терапевтических препаратов. Подходы с применением разветвленных функциональных олигонуклеотидных конъюгатов используются для создания потенциальных терапевтических агентов, диагностических инструментов, или в качестве элементов динамических ДНК-наноструктур. Разветвленные структуры позволяют вводить в состав одной конструкции несколько разных или одинаковых функциональных лигандов или олигонуклеотидов, что позволяет в одних случаях повысить сродство олигонуклеотидной конструкции к специфическому рецептору, а в других доставить сразу несколько олигонуклеотидов. Разветвленные олигонуклеотидные конструкции позволяют собирать ДНК-наноструктуры, которые находят особое применение в молекулярной биологии и создании биокомпьютеров.

Структура диссертации

Диссертационная работа имеет традиционную структуру и состоит из разделов «Список сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Обсуждение результатов», «Экспериментальная часть», «Выводы», «Благодарности» и «Список литературы». Работа изложена на 108 страницах, содержит 58 рисунков, 8 схем, 3 таблицы. Список литературы содержит 283 источника.

Во введении подробно изложена история развития олигонуклеотидного синтеза и возникшие в результате области применения синтетических олигонуклеотидов. В конце введения приведен список публикаций автора по диссертационной работе. Введение изложено на 5 страницах и содержит 121 ссылку.

Цель работы сформулирована четко, перечислены отдельные задачи работы, описана научная новизна работы, ее практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы изложен на 22 страницах и состоит из 4 разделов: «Разветвляющие реагенты для использования в твердофазном автоматическом олигонуклеотидном синтезе»; «Синтез олигонуклеотидов, содержащих разветвленную N-ацетил-галактозаминовую модификацию»; «Синтез разветвленных олигонуклеотидных конъюгатов с использованием биоортогональных реакций» и «Разветвленные конъюгаты аптамеров». Обзор хорошо иллюстрирован и логично изложен. Обзор вместе с разделом «Введение» содержит 248 ссылок. В конце разделов можно найти обобщение и обоснование для выполнения данной научно-исследовательской работы в свете опубликованных ранее данных.

Глава «Разработка подходов к синтезу разветвленных олигонуклеотидных конъюгатов (результаты и обсуждение)» содержит 6 разделов, в которых изложено содержание работы от синтеза разветвляющих реагентов до получения и исследования разветвленных олигонуклеотидных конъюгатов. Результаты достаточно полно представлены в тексте и проиллюстрированы. Обсуждение результатов не противоречит приведенным первичным экспериментальным данным.

Экспериментальная часть содержит описание всех методов и подходов, использованных в работе для синтеза и исследования полученных разветвленных олигонуклеотидных конъюгатов. Методики изложены подробно и при необходимости дополнены структурами и формулами, что облегчает восприятие материала.

Выводы, сделанные автором по результатам работы, не вызывают сомнений, подтверждены экспериментальными данными и соответствуют целям и задачам исследования.

Список литературы содержит достаточное количество литературных источников, отражающих современное состояние данной области науки в настоящее время.

Несмотря на все положительные качества работы, у меня возникло определенное количество замечаний и вопросов к диссертации.

Замечания к диссертационной работе

В первую очередь необходимо отметить наличие в тексте диссертации большого количества опечаток, неудачных выражений и англицизмов. Например, слово «наномомеры» вместо наномономеров встречается почти во всех случаях, диазидометан использован вместо diazometane. Большинство рисунков, схем и таблиц приведено на английском языке. В главе «Экспериментальная часть» чувствуется использование переводчика, который достаточно неточно переводит методики. Встречается несогласование времен, падежей, возникают точки посередине предложения и др.

В диссертации отсутствуют ЯМР спектры, профили хроматографий и спектры флуоресценции полученных конъюгатов с флуоресцентными красителями. В подписях к рисункам, на которых изображены электрофореграммы, отсутствуют данные о способе визуализации олигонуклеотидов в геле. Выражение «анализ реакций» лучше заменить на «анализ продуктов реакции» (рис.26, стр.34; рис.27, стр.35; рис.29, стр.38; рис.32, стр.41; рис.39, рис.40, рис.43).

На странице 34 автор работы утверждает, что выходы элюции конъюгатов из геля зависят от степени замещения разветвляющего реагента. Как это продемонстрировано? Автору необходимо объяснить этот момент.

На странице 39 автор ссылается на приложение, которое в работе отсутствует.

На странице 56 автор использует выражение «сильно модифицированные конъюгаты», что автор подразумевает под этим выражением?

На странице 57 автор пишет «siRNA для нацеливания на белок», что с точки зрения РНК интерференции не верно, так как происходит воздействие на мРНК, кодирующую определенный белок. На мой взгляд не допустимо использование таких формулировок.

На странице 57 присутствует неудачное выражение «Lnc является смысловой цепью siRNA люциферазы». Белок люцифераза не содержит в себе цепей РНК.

В подписи к схеме 7 на странице 62 автор ссылается на схему 2, но там нет той информации, о которой пишет автор.

В разделе 2.6 «Синтез разветвлённых конъюгатов EGFR-специфического аптамера, содержащих ферментативно-отщепляемый MMAE» автор сначала приводит синтез и доказательство строения конъюгатов аптамеров с MMAE, а потом обоснование почему выбран именно MMAE и конкретно этот расщепляемый линкер. На мой взгляд логичнее было бы это изложить в другом порядке.

Приведенные замечания не умаляют заслуг автора в выполнении хорошей научно-исследовательской работы, хотя и значительно затрудняют восприятие текста диссертации.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Брылёва Владимира Анатольевича «Разработка подходов к синтезу разветвлённых функциональных олигонуклеотидных конъюгатов» соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. № 1539; 26.09.2022 г. № 1690; 26.01.2023 г. № 101; 25.01.2024 № 62), а сам диссертант несомненно

заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности
1.4.9 – Биоорганическая химия.

Официальный оппонент

Новопашина Дарья Сергеевна

старший научный сотрудник лаборатории химии РНК

заместитель директора Института химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук

Кандидат химических наук

Шифр специальности 1.4.9 – «Биоорганическая химия»

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Тел. +7 (383) 363-51-32

E-mail: danov@niboch.nsc.ru

Подпись к.х.н. Новопашинной Д.С.

«Удостоверяю»

Ученый секретарь Института химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук

к.б.н. Логашенко Евгения Борисовна

МП

