

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Аль Шанаа Усама «СИНТЕЗ АПТАМЕРОВ РНК В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика

Актуальность темы:

Диссертация Аль Шанаа Усама посвящена разработке технологии синтеза аптамеров РНК в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. Учитывая важность создания технологий синтеза аптамеров для биомедицины и детекции различных соединений, тема диссертации является актуальной.

Основные научные результаты, полученные автором в работе:

В работе разработана система синтеза и сборки модельного аптамера РНК Broccoli непосредственно в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Изучено влияние синтеза этого аптамера на транскриптом дрожжей и их жизнеспособность.

Новизна исследования и полученных результатов:

В работе впервые разработана модельная система для синтеза РНК аптамера в клетках дрожжей. С учётом проблем с использованием других систем для синтеза ДНК и РНК аптамеров это новое направление исследований может оказаться перспективным.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, достаточно обоснованы. Их обоснованность подтверждается публикациями автора по теме диссертации в научных журналах.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость работы определяется в первую очередь тем, что впервые показана принципиальная возможность синтеза РНК аптамеров в эукариотических объектах. Эти исследования могут иметь практический выход в том случае, если в дальнейшем будет разработана удобная и практичная технология выделения и очистки РНК аптамеров из дрожжей, и данная методология в целом будет иметь преимущества в сравнении с уже разработанными стандартными подходами.

Структура и объем работы.

Текст диссертации включает традиционные разделы, Раздел «Результаты» иллюстрирован, в целом содержание работы изложено хорошо, подробно и понятно. Русскоязычный текст диссертации изложен на 113 страницах.

Оценка содержания диссертационной работы.

Название диссертации отражает её содержание. В работе получены новые результаты, которые представляют научный интерес. Вместе с тем, к работе есть определённые вопросы и замечания по форме изложения и по содержанию.

Непонятно, почему в подразделе «Степень достоверности и апробация результатов исследования» одна ссылка на статью в журнале «Экологическая генетика» приведена на английском, а другая на русском языке.

В «Обзоре литературы» на странице 143 в предпоследнем абзаце дважды говорится о том, что для продукции аптамеров в дрожжевых клетках используется промотор T7. Это ошибка. Промотор T7 работает в бактериях, но не в клетках дрожжей.

На странице 144 речь идёт о доставке терапевтических препаратов на основе РНК с помощью дрожжей к клеткам – мишеням. Автор пишет: «Рекомбинантный штамм *S. cerevisiae*, синтезирующий цитомегаловирусный фосфопротеин pp65, использовался для доставки мРНК в дендритные клетки, это можно рассматривать в качестве нового типа живой вакцины (Walch et al., 2011).».

Хочется уточнить – и что было дальше? После поглощения клеток дрожжей последовательности РНК оставались целыми и функционировали? Насколько стабильными были такие последовательности РНК, и был ли показан эффект их применения в данной работе?

Несколько необычно, что плазмидное конструирование и некоторые другие методы описываются не в разделе «Материалы и методы», а в разделе «Результаты». Однако, учитывая биотехнологическую направленность данной работы, это допустимо.

Основные замечания к разделу «Результаты» связаны с рисунками. На рисунке 6 (страница 161) на панели «б» почти не виден амплификат. К рисункам 6, 8 и 10 общее замечание – обозначения очень мелкие, их не рассмотреть, разрешение рисунков очень низкое. К публикации в научных статьях рисунки с таким низким разрешением не принимаются. Разрешение рисунка 11 (страница 167) также очень низкое. Кроме того, на этом рисунке необходимо указать, что разным цветом обозначены разные повторности. Почему показан только узкий диапазон волны? Если это пик флуоресценции, то за границами этого диапазона должно отмечаться заметное снижение интенсивности флуоресценции. Для одной из повторностей этого не наблюдается.

На странице 180 автор делает заключение: «Отсутствие существенного влияния синтеза аптамера РНК на жизнедеятельность штамма-продуцента позволяет говорить о перспективности использования дрожжей для получения аптамеров РНК».

Возможно, это так. Однако, для того, чтобы сделать окончательное заключение нужно оценить весь технологический цикл, а не только синтез РНК аптамеров в клетках дрожжей. Как практически можно выделять и очищать РНК-аптамеры из клеток дрожжей? Будет ли это дешевле и проще, чем химический синтез этих аптамеров или их продукция в *E. coli*? Для того, чтобы очистить РНК-аптамеры, которые синтезируются в дрожжах, вероятно, надо сливать их с какой-либо тагирующей последовательностью, а затем удалять эту дополнительную последовательность. Или предполагается другой способ очистки? К сожалению, в работе перспективы выделения и очистки аптамеров из клеток дрожжей не обсуждаются.

Заключение

Выводы диссертационной работы обоснованы и представлены корректно. Сделанные замечания и перечисленные вопросы не ставят под сомнение научную ценность проведённого исследования и значимость полученных научных результатов. Диссертация Аль Шанаа Усама «Синтез аптамеров РНК в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете». Соискатель Аль Шанаа Усама заслуживает присуждения ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Согласен на включение моих персональных данных в аттестационное дело, размещение в интернете и их дальнейшую обработку.

Член диссертационного совета, директор Санкт-Петербургского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской Академии Наук,

Профессор кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ,

доктор биологических наук

по специальности 1.5.7. (03.02.07.) – генетика

Галкин Алексей Петрович,

Университетская наб., 7/9,

Санкт-Петербург, 199034

E-mail: apgalkin@mail.ru

