

## ОТЗЫВ

Члена диссертационного совета на диссертацию Аль Шанаа Усамы на тему: «Синтез аптамеров РНК в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*», представленную на соискание ученой степени кандидата наук по научной специальности (1.5.7. - Генетика)

### **Актуальность темы диссертационной работы**

Диссертация Аль Шанаа Усамы посвящена разработке платформы для биологического синтеза аптамеров РНК. Аптамеры способны связываться с высокой аффинностью и специфичностью с разнообразными молекулами-мишенями, не обладают иммуногенностью и токсичностью. Эти особенности аптамеров открывают перспективу их применения в терапии, диагностике, очистке молекул-мишеней из сложных смесей, создании биосенсоров. Одним из способов получения аптамеров может быть гетерологичный синтез. Использование в качестве продуцента дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* позволит не только получить аптамеры, но также оценить возможное влияние аптамеров на состояние эукариотической клетки. В связи с вышесказанным диссертационная работа Аль Шанаа Усамы представляется актуальной и своевременной. Для достижения цели диссертации и решения поставленных задач автор использует интегральный подход, сочетающий методы генетики, генетической инженерии, транскриптомного и биоинформатического анализа. Использование этих методов позволило получить информацию, отличающуюся новизной и представляющую практический интерес.

### **Научная и практическая значимость работы**

Результаты, полученные Аль Шанаа У, несомненно, отличаются новизной. Впервые была продемонстрирована возможность использования дрожжей *S. cerevisiae* в качестве платформы для синтеза аптамеров РНК *in vivo*. Доказательством успешного синтеза и самосборки аптамера РНК в клетках дрожжей было появление флуоресценции в присутствии красителя DFHBI-1T. Впервые изучено влияние молекулы аптамера РНК Broccoli на дрожжи *S. cerevisiae* при анализе транскриптома штамма дрожжей-продуцента аптамера.

Результаты настоящей работы позволяют сделать предварительные выводы о свойствах и стабильности аптамеров РНК *in vivo*, о возможном влиянии аптамеров РНК на эукариотические клетки. Эти данные будут способствовать развитию исследований в области нанобиотехнологии нуклеиновых кислот. Разработанные подходы для получения векторов экспрессии аптамера РНК Broccoli и штаммов дрожжей – продуцентов этого аптамера могут быть в дальнейшем использованы для синтеза различных вариантов аптамеров РНК, представляющих интерес как для биологии, так и для медицины.

### **Достоверность и обоснованность результатов исследования**

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Обоснованность научных положений и выводов подтверждается приведенными результатами, которые получены при использовании различных современных методов, адекватных поставленным задачам, и статистически обоснованы. Основные результаты работы были представлены на всероссийских и международных научных конференциях и



опубликованы в двух международном и двух отечественных рецензируемых научных журналах.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа Аль Шанаа У. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, включающей материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводов, списка цитированной литературы и приложения. Русскоязычный вариант диссертации изложен на 117 страницах, иллюстрирован 21 рисунком и 3 таблицами. Приложение содержит одну таблицу. Список цитируемой литературы включает 247 источников.

**Во введении** автор подчеркивает актуальность проблемы, формулирует цель и задачи исследования, характеризует новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, приводит положения, выносимые на защиту и сведения о представлении полученных результатов.

**Обзор литературы** состоит из двух глав. Первая глава содержит подробные сведения об аптамерах, способах их синтеза и вариантах использования. Вторая глава посвящена дрожжам *S. cerevisiae*, как модельному объекту молекулярной генетики и организму-продуценту биологически активных соединений.

В разделе **«Материалы и методы»** представлены использованные автором методы генетической инженерии, молекулярной биологии, секвенирования, транскриптного анализа, приведены плазмиды, штаммы бактерий и дрожжей и условия их культивирования. Все использованные методы адекватны поставленным задачам и свидетельствуют о хорошей методической подготовке автора.

В разделе **«Результаты»**, который состоит из 3 глав, представлены экспериментальные данные, позволившие автору решить поставленные задачи. Первая глава посвящена разработке репортерной конструкции на основе аптамера РНК Broccoli, сравнению эффективности использования разных экспрессионных кассет для экспрессии аптамера. Во второй главе приведены данные, полученные при проведении анализа транскриптома штамма дрожжей, синтезирующего аптамер РНК Broccoli. Список генов, которые достоверно демонстрировали понижение или повышение уровня мРНК в ответ на синтез в клетке аптамера РНК Broccoli автор приводит в таблице III Приложения. В заключительной главе раздела представлены данные проверки влияния делеции гена *XRN1* на жизнеспособность дрожжей.

В разделе **«Обсуждение»** основное внимание автор уделяет данным транскриптного анализа, анализирует полученные результаты, сопоставляет их с данными других исследователей, выдвигает интересное предположение о том, что РНК-аза III может играть ключевую роль в ответе клетки дрожжей на синтез аптамера РНК.

Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам, вытекают из проведенных экспериментов, четко сформулированы, аргументированы и достоверны.

При чтении диссертации возникли следующие вопросы:

1. Существуют ли способы повышения стабильности аптамеров РНК?
2. Являются ли наблюдаемые изменения уровня транскрипции генов у продуцентов аптамера РНК Broccoli уникальными, обусловленными именно этой молекулой

РНК или подобные изменения транскриптома могут происходить при синтезе других молекул РНК?

3. Приводит ли наблюдаемое изменение уровня уровней мРНК ряда генов, вовлеченных в биогенез и функционирование клеточной стенки дрожжей к осмочувствительности, термочувствительности, меняется ли скорость роста штаммов-продуцентов?
4. Оценивали ли точность вырезания нуклеотидной последовательности аптамера РНК Broccoli при использовании в экспрессионной кассете рибозимов НН (Hammerhead) и HDV (вируса гепатита дельта)?

Высказанные замечания и вопросы, которые носят дискуссионный характер, не затрагивают основных результатов и выводов диссертации и не снижают общего положительного впечатления от работы.

Таким образом, диссертация Аль Шанаа Усамы на тему «Синтез аптамеров РНК в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*» является научно-квалификационной работой, которая вносит существенный вклад в развитие нанобиотехнологии, демонстрирует возможность получения аптамеров РНК в клетках дрожжей и выяснения влияния аптамеров на эукариотическую клетку. Полученные данные представляют интерес для специалистов в области молекулярной генетики, биотехнологии, биохимии.

Диссертация Аль Шанаа Усамы на тему «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.

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Член диссертационного совета

Д.б.н., профессор

Заведующий лабораторией молекулярной биологии

ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

*Козлов*

Андрей Петрович Козлов

11.12.2023г.

*Советом ученой степени*



*Козлова Д.П. заверяю*

*И.о. начальника отдела кадров (М.В. Петрова)*