ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Летягиной Анны Евгеньевны

«Анализ влияния последовательности, расположенной после сайта полиаденилирования, на уровень зрелой мРНК репортёрного гена eGFP в культивируемых клетках человека HEK293T», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «генетика».

В своей работе Анна Евгеньевна Летягина исследовала влияние нуклеотидной последовательности, расположенной после сигнала полиаденилирования (СПА), на уровень зрелой мРНК репортерной генно-инженерной конструкции в культивируемых клетках почки эмбриона человека. Для решения этой задачи автором использовался метод массового параллельного репортерного анализа, позволяющий одновременно определять уровень транскрипционной активности большого числа не интегрированных в геном трансгенов. Для этого был разработан алгоритм MPRAdecoder обработки данных, полученных с помощью высокопроизводительного параллельного секвенирования библиотек с *a priori* неизвестными нуклеотидными последовательностями «штрих-кода» (ШК) и исследуемой области (мутации). Алгоритм надежно идентифицирует ШК и связанные с ним мутации, вычисляет нормализованный уровень экспрессии для каждого ШК и усредненные значения для каждой мутации. Важным этапом работы явилась оптимизация условий ПЦР для минимизации образования химерных молекул ДНК, которые могут образовываться на матрицах с идентичным спейсерным фрагментом: были подобраны параметры, что позволило использовать менее трудоемкую традиционную ПЦР с эффективностью, не уступающей эмульсионной ПЦР. В результате проведенных исследований интересной находкой оказалась область ниже СПА sNRP-1, не входящая в состав молекулы зрелой мРНК, но влияющая на ее уровень и уровень репортерного белка eGFP. Было проанализировано более 200 тысяч вариантов последовательностей, что позволило впервые обнаружить статистически достоверную взаимосвязь между низкой стабильностью вторичной структуры после СПА и высоким уровнем экспрессии репортёра. Также были использованы методы машинного обучения для разработки модели, предсказывающей уровень зрелой мРНК по нуклеотидной последовательности участка после СПА. Предсказанные последовательности с наибольшем уровнем экспрессии репортера нашли хорошее экспериментальное подтверждение в культивируемых клетках человека HEK293T.

Проведенная диссертантом работа, несомненно, актуальна и имеет не только научную ценность, но и практическое и методическое значение, т.к. разработанные подходы и методы могут быть использованы для высокопроизводительной функциональной оценки влияния различных регуляторных элементов ДНК на уровни зрелых мРНК и, в конечном счете, на уровни экспрессии тестируемых генов.

Диссертационная работа является завершенным научно-квалификационным трудом, выполненным на высоком научном и профессиональном уровне. В автореферате кратко изложены результаты, соответствующие выводам диссертационной работы, которые были опубликованы автором в виде трех экспериментальных статей в рецензируемых международных научных изданиях.

Представленная диссертационная работа, конспективно изложенная в автореферате, отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Летягина Анна Евгеньевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «генетика».

Кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории
генетической регуляции метаболических процессов
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института молекулярной
биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук (ИМБ РАН)

04.02.2026

Прошкин Сергей Александрович

119991, Москва, ул. Вавилова, д.32
Тел.: 8(499)135-23-11, 8(499)135-11-60

Подпись к.б.н. Прошкина Сергея Александровича заверяю:
Ученый секретарь ИМБ РАН
к.ф.-м.н. Коновалова Елизавета Владимировна

04.02.2026