

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 НЕК293Т»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «Генетика»

Изменение активности генов является фундаментальным способом управления судьбой клеток человека. За счет изменения уровня экспрессии генов происходит развитие организма, а также осуществляется реакция организма на изменение внешней и внутренней среды. Кроме того, нарушение экспрессии генов лежит в основе механизмов развития многих патологий человека. В настоящее время наиболее исследованным механизмом изменения экспрессии генов является изменение его транскрипции в результате нарушения активности регуляторных элементов ДНК, находящихся в промоторах или энхансерах. Гораздо менее исследованы фундаментальные механизмы, изменяющие экспрессию генов на уровне процессинга синтезированной РНК. С этой точки зрения представленная работа, которая направлена на исследование механизмов процессинга высокопроизводительными методами, является крайне актуальным исследованием, которое позволило получить фундаментальную информацию, востребованную научным сообществом.

В работе Летягиной Анны Евгеньевны были четко сформулированы цель и задачи, направленные на исследование роли последовательностей, расположенных ниже сайта полиаденилирования, на уровень экспрессии транскриптов в культивируемых клетках человека. Для решения данных задач автор применила широкий спектр современных методов современной молекулярной биологии. Особое уважение вызывает самостоятельное использование автором биоинформатических методов для обработки полученных высокопроизводительных данных, которое реализовалось в самостоятельной разработке автором программ для анализа последовательностей, влияющих на процессинг транскриптов. В результате проделанной работы автором были получены ценные фундаментальные научные данные. Было показано, что нуклеотидный состав последовательностей, расположенных +17..40 п.н. ниже сигнала полиаденилирования оказывает наиболее существенное влияние на эффективность процессинга продуцируемой РНК. Разработанные автором программы позволили автору, на основе имеющихся данных, сделать предсказание и создать искусственные последовательности, способствующие высокой или низкой эффективности процессинга. Сильной стороной представленной работы является проведенная автором экспериментальная верификация эффективности работы предложенных последовательностей, которая выражалась в изменении, как в уровне процессированной РНК, так и в уровне белка. Разработка алгоритма, предсказывающего последовательности для эффективного процессинга, добавляет представленной работе практической значимости. Вполне вероятно, что предложенные алгоритмы могут быть использованы для разработки биотехнологических конструкций, в которых последовательности терминации будут адаптированы под особенности определенной клеточной линии-производителя.

Выводы, сформулированные в работе, полностью соответствуют поставленным цели и задачам. Полученные в диссертационной работе результаты являются новыми, их актуальность и научная ценность не вызывает сомнения.

Формальных и принципиальных замечаний по работе нет.

В качестве дискуссии интересно узнать мнение автора о возможной роли обнаруженных последовательностей в механизмах транскрипции генов на уровне ДНК. Широко известно, что процессинговые комплексы «загружаются» на РНК-полимеразу II и взаимодействуют непосредственно с синтезированной РНК. Однако, нельзя исключать, что исследованные автором последовательности в составе ДНК также могут оказывать эффект на транскрипцию и даже, возможно, косвенный эффект на процессинг. Например, наличие последовательности в ДНК может влиять на скорость продвижения полимеразы в данном районе, на ее степень или тип фосфорилирования. В свою очередь, изменение свойств комплекса РНК-полимеразы II может оказать эффект на комплексы процессинга и его эффективность. С этой точки зрения, было бы интересно узнать мнение автора о потенциальном влиянии, которое могло бы оказать наличие хроматина на ДНК данных последовательностей? Для исследования такого эффекта, несомненно, необходимым условием является интеграция исследуемых конструкций в геном, что безусловно сложно исследовать высокопроизводительными методами. Однако, на уровне проверки отдельных эффективных/не эффективных последовательностей было бы интересно параллельно исследовать конструкции в виде временно/стабильно трансфицированных линий. Планируются ли автором подобные исследования?

Материалы работы отражены в 3 научных статьях и 9 тезисных сообщениях российских и международных конференций.

Автореферат имеет четкую структуру, написан научным языком, впечатляет разнообразием примененных методов. Глава «результаты» снабжена качественными изображениями и схемами, с подробными подписями к ним, что помогает осмыслению результатов и не оставляет сомнения в их значимости. Работа в полной мере заслуживает признания, а автор присуждения искомой степени.

Диссертационная работа Летягиной Анны Евгеньевны «Анализ влияния последовательности, расположенной после сайта полиаденилирования, на уровень зрелой мРНК репортёрного гена eGFP в культивируемых клетках человека НЕК293Т» соответствует всем ключевым требованиям п.п 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (в текущей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам диссертант заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «Генетика».

Даю свое согласие на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных в работе диссертационного совета 24.1.239.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральном исследовательском центре Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Ведущий научный сотрудник группы динамики транскрипционных комплексов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН)

д.б.н

Воробьева Надежда Евгеньевна

В.В.В. 04.02.2026

степень

ФИО

подпись, дата

