

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-технологическому
развитию
федерального государственного
автономного образовательного учреждения
высшего образования Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет),
доктор фармацевтических наук, профессор

В.В. Тарасов

«15» декабря 2025 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

о научно-практической значимости диссертационной работы
Летягиной Анны Евгеньевны на тему
«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.

Актуальность заявленной темы.

Исследование механизмов регуляции экспрессии генов является одной из важнейших и актуальных задач современной молекулярной биологии, поскольку оно имеет как фундаментальное теоретическое, так и прикладное значение для биотехнологии, медицины и фармакологии. Особое место в данных исследованиях занимает изучение влияния различных последовательностей ДНК на уровень экспрессии мРНК, поскольку от этого напрямую зависят особенности синтеза белков, которые, в свою очередь, определяют физиологические и биохимические процессы в клетке. На сегодняшний день наибольшее внимание уделяется анализу регуляторных районов на 5'-конце гена, управляющих началом транскрипции. В то же время регионы в области 3'-конца, отвечающие за завершение транскрипции, полиаденилирование, стабильность и транспорт мРНК, остаются изученными значительно хуже.

Особый интерес представляет процесс полиаденилирования и механизмы терминации транскрипции, формирующие зрелую 3'-концевую область мРНК. Именно в этом участке происходит сборка сложного белкового комплекса, который регулирует не только саму стадию окончания транскрипции, но и стабильность созревающей мРНК. Сложность и функции этого белкового комплекса пока

недостаточно изучены, что заметно ограничивает наши знания о завершающих этапах реализации генетической информации.

В связи с этим диссертационное исследование Летягиной А.Е. приобретает особую актуальность. Проведенная работа позволяет пролить свет на целый комплекс ранее не исследованных или мало изученных молекулярно-генетических процессов. В рамках данного исследования подробно проанализировано влияние мутаций в локусе, расположенном непосредственно за сигналом полиаденилирования, на уровень зрелой матричной РНК. Полученные в диссертации результаты позволяют расширить представления о том, как последовательности, расположенные на 3'-конце гена, могут существенно влиять на экспрессию генов, а также открывают новые подходы к целенаправленной регуляции генетической информации на посттранскрипционном уровне.

Научная новизна.

В диссертационной работе Летягиной Анны Евгеньевны впервые проведено исследование влияния последовательности, расположенной ниже сигнала полиаденилирования, на уровень зрелой мРНК в модельной системе. В рамках работы с использованием клеточной модельной системы и методов компьютерного моделирования впервые была выявлена и подтверждена взаимосвязь между уровнем мРНК и стабильностью вторичной структуры 3'-конца пре-мРНК. Полученные данные расширяют современные представления о регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне, подчеркивая важную роль вторичной структуры РНК в судьбе транскрипта.

Теоретическое и практическое значение.

Результаты диссертационной работы Летягиной А.Е. обладают значительным как теоретическим, так и практическим значением для современной генетики, молекулярной биологии и геной инженерии. В частности, полученные ею данные о влиянии последовательности 3'-конца гена, а также вторичной структуры 3'-конца мРНК на уровень, стабильность мРНК и, как следствие, эффективность экспрессии генов, имеют важнейшее фундаментальное значение. Эти результаты существенно углубляют современные представления о молекулярных механизмах регуляции экспрессии генов у эукариотических организмов.

Практическое значение диссертационного исследования также крайне высоко, поскольку полученные данные могут быть использованы при создании трансгенных модельных систем, биотехнологических продуцентов и для совершенствования методов геной терапии. Во многих случаях при конструировании эукариотических экспрессионных систем требуется тонкая регулировка активности отдельных генов. Предложенные подходы, основанные на внесении целенаправленных изменений в последовательность после сигнала полиаденилирования, дают возможность эффективно управлять экспрессией целевых генов в эпизомных генетических конструкциях, что открывает новые перспективы для применения этих методик в целом ряде прикладных задач.

Анализ обоснованности и достоверности полученных данных.

Достоверность представленных в диссертационной работе А.Е. Летягиной результатов не вызывает сомнений и обеспечивается: 1. Адекватным выбором генетических конструкций и модельной клеточной линии. 2. Использованием

широкого спектра самых современных взаимодополняющих методов и подходов, с применением современного оборудования. 3. Обширным объемом полученных экспериментальных данных, их детальным анализом и применением адекватных статистических инструментов.

Выводы и положения, выносимые на защиту, корректны и в полной мере отражают полученные результаты.

Достоверность результатов также подтверждается апробацией работы на многих российских и международных научных конференциях. Результаты опубликованы в 3 статьях в изданиях из списка ВАК при Минобрнауки России.

Соответствие диссертации паспорту специальности.

Диссертационная работа соответствует п. 9 «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Взаимодействие генов.» и п. 16 «Генетическая/молекулярно-генетическая биоинформатика и методы многомерного анализа» паспорта научной специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

Характеристика работы.

Диссертация написана по классической схеме и состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и заключения.

Текст диссертации изложен на 208 страницах, содержит 10 таблиц, 29 рисунков и 2 приложения, что обеспечивает наглядность и доступность материала. Список литературы включает 535 источников.

Во введении автором обоснована актуальность работы, четко сформулированы цели и задачи исследования, обоснованы научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту.

В обширном обзоре литературы очень подробно рассмотрены механизмы терминации транскрипции у про- и эукариот. Особое внимание уделяется современным представлениям о регуляции терминации, а также их биологической значимости. Кроме того, дано детальное описание принципов использования массового параллельного репортерного анализа для различных биологических приложений, что позволяет подчеркнуть широкий спектр возможностей данного метода для изучения регуляторных элементов и функциональной оценки последовательностей генома. Также в обзоре литературы рассмотрена история исследований последовательностей после сайта полиаденилирования. Таким образом, обзор литературы отличается глубиной, последовательностью изложения и охватывает широкий круг фундаментальных и прикладных аспектов диссертации.

Раздел «Материалы и методы» изложен достаточно подробно и обеспечивает ясное понимание каждого этапа выполнения исследования. Тщательно описанные методики позволяют проследить логику проведения экспериментов. Благодаря полноте и последовательности изложения этот раздел даёт возможность не только в полном объёме составить представление о всех нюансах работы, но и при необходимости воспроизвести описанные эксперименты, что свидетельствует о высокой научной добросовестности автора.

Результаты написаны очень подробно и проиллюстрированы, их достоверность не вызывает сомнения. Глава результатов содержит информацию о всех деталях подготовки и проведения массового параллельного репортерного анализа, представлены результаты исследования влияния последовательностей, расположенных после сайта полиаденилирования на уровень зрелой мРНК, влияния вторичной структуры участка после сайта полиаденилирования на уровень экспрессии репортерного гена в конструкции. Также в разделе «Результаты» детально описано получение, характеристики и использование модели DoSIA, предсказывающей уровень экспрессии репортера в зависимости от последовательностей на 3'-конце.

Заключение к диссертации подводит итоги проведённого исследования, обобщая все основные результаты, полученные в ходе работы. Сделанные выводы являются обоснованными, логично вытекают из полученных данных и в полной мере соответствуют поставленным в начале исследования задачам, а также полученным в ходе работы результатам.

В приложениях приводятся карты использованных плазмид и последовательности всех использованных в работе олигонуклеотидов.

Автореферат отражает содержание и основные положения диссертации в полном объёме, обеспечивает целостное представление о сути проведённого исследования и достигнутых научных результатов. Таким образом, все разделы работы взаимосвязаны и раскрывают актуальность, значимость и научную новизну проведённого исследования.

Вопросы и замечания.

Однако к представленной диссертации имеется ряд вопросов и замечаний.

1. Работа содержит незначительное количество опечаток и неточностей (напр.: среда..., модифицированная Дульбекком; клетки получены из банка данных АТСС; и т.д.).

В «Материалах и методах» нет отдельного раздела «Материалы» с перечислением использованных реактивов.

На рисунке 19 представлены изменения уровней зрелой мРНК в зависимости от изменений различных районов после сайта полиаденилирования. Не понятно, почему уровень мРНК в пиковых значениях изменяется только в сторону увеличения или не меняется, и нет снижения уровней. Тот же вопрос касается рисунка 20. Значит ли это, что любые изменения последовательностей в районе 25-44 приводят к повышению уровней мРНК?

4. После представленных результатов в тексте диссертации не хватает обсуждения предполагаемых механизмов изменения уровней мРНК при изменении последовательностей после сигнала полиаденилирования.

Перечисленные замечания не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение.

Диссертационная работа Летягиной Анны Евгеньевны «Анализ влияния последовательности, расположенной после сайта полиаденилирования, на уровень

зрелой мРНК репортёрного гена eGFP в культивируемых клетках человека НЕК293Т», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «генетика», является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований получены новые данные о влиянии 3'-конца генов на уровень мРНК.

Выполненная работа по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в действующей редакции)), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор представленной диссертации Летягина Анна Евгеньевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 Генетика.

Отзыв ведущей организации заслушан, обсужден и одобрен на заседании Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет) «13» ноября 2025 года, протокол № 15.

доктор биологических наук
по специальности 1.5.3. Молекулярная
биология, заведующий Лабораторией
генотерапии Института регенеративной
медицины Научно-технологического
парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый
МГМУ имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(Сеченовский Университет)

Юдкин Дмитрий Владимирович



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Адрес: 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
Телефон: +7 (499) 248-05-53
Факс: +7 (499) 248-01-81
Web-сайт: <https://www.sechenov.ru>