ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 11 февраля 2026 г. №4

О присуждении Летягиной Анне Евгеньевне

(гражданин РФ)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Летягиной А.Е. «Анализ влияния последовательности, расположенной после сайта полиаденилирования, на уровень зрелой мРНК репортёрного гена eGFP в культивируемых клетках человека HEK293T», по специальности 1.5.7. – генетика, принята к защите 16.10.2025 г, протокол № 16, Диссертационным советом 24.1.239.01 (Д 003.011.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет 24.1.239.01 (Д 003.011.01) утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Летягина Аннна Евгеньевна, 27 июля 1993 года рождения, в 2017 году окончила Факультет естественных наук Новосибирского государственного университета с присуждением степени

магистра по направлению подготовки «06.04.01 Биология». В 2024 году окончила очную аспирантуру НГУ по направлению подготовки «06.06.01 Биологические науки». В настоящее время работает научным сотрудником в лаборатории клеточного деления ИМКБ СО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории клеточного деления ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения РАН» и на кафедре цитологии и генетики факультета естественных наук ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Омелина Евгения Сергеевна, заведующая лабораторией клеточного деления ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения РАН».

Официальные оппоненты:

1. **Максименко Оксана Геннадьевна**, доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе, руководитель Центра геномных исследований ФГБУН «Институт биологии гена РАН», г. Москва.
2. **Скоблов Михаил Юрьевич,** доктор биологических наук, заведующий отделом функциональной геномики «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), г. Москва в своём положительном отзыве, составленном доктором биологических наук, заведующим лабораторией генотерапии института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины Сеченовского университета Юдкиным Дмитрием

Владимировичем и утвержденном проректором по научно-технологическому развитию Сеченовского университета Тарасовым Вадимом Владимировичем указала, что «Диссертационная работа Летягиной Анны Евгеньевны «Анализ влияния последовательности, расположенной после сайта полиаденилирования, на уровень зрелой мРНК репортёрного гена eGFP в культивируемых клетках человека HEK293T», 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)), предъявленным 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.»

Соискатель имеет всего 16 опубликованных работ, из них 13 по теме диссертации, общим объемом 55 страниц, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях (WoS, Scopus) и 9 тезисов в материалах всероссийских и

международных конференций. Во всех опубликованных работах личный вклад автора был определяющий. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. 1. Omelina E.S., Ivankin A.V., **Letiagina A.E.**, Pindyurin A.V. Optimized PCR conditions minimizing the formation of chimeric DNA molecules from MPRA plasmid libraries // BMC Genomics. 2019. Vol. 20, № Suppl 7. P. 536, WoS, Scopus, IF = 3.5.

2. **2. Letiagina A.E.***, Omelina E.S.*, Ivankin A.V., Pindyurin A.V. MPRAdecoder: Processing of the raw MPRA data with a priori unknown sequences of the region of interest and associated barcodes // Front. Genet. 2021. Vol. 12. P. 618189, WoS, Scopus, IF = 2.8.

3. 3. Omelina E.S.*, **Letiagina A.E.***, Boldyreva L.V., Ogienko A.A., Galimova Y.A., Yarinich L.A., Pindyurin A.V., Andreyeva E.N. Slight variations in the sequence downstream of the polyadenylation signal significantly increase transgene expression in HEK293T and CHO cells // Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23, № 24. P. 15485, WoS, Scopus, IF = 4.9.

* – равный вклад.

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

1) Артёмов Г.Н. – к.б.н., доцент кафедры генетики и клеточной биологии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск. «*Из небольших замечаний хотелось бы отметить крайне небольшой объём главы «Заключение», которая представлена лишь одним предложением, хотя было бы неплохо, учитывая ограниченный формат автореферата, обсудить значение полученных результатов и перспективы развития исследования. Интересно мнение соискателя о результатах, проиллюстрированных рисунком 3 автореферата, а именно какое значение для экспрессии генов*

имеет соотношение незрелых и зрелых транскриптов и как изменение исследуемой регуляторной области гена влияет на изменение этого соотношения?»

2) Колесникова Т.Д. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», г. Новосибирск. «*Хотелось бы видеть больше обсуждения, как автор оценивает универсальность своих результатов.*»
3) Фишман В.С. – д.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий сектором геномных механизмов онтогенеза ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск.
4) Воробьева Н.Е. – д.б.н., ведущий научный сотрудник группы динамики транскрипционных комплексов ФГБУН «Института биологии гена РАН», г. Москва. «*... интересно узнать мнение автора о потенциальном влиянии, которое могло бы оказать наличие хроматина на ДНК данных последовательностей?*»
5) Прошкин С.А. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории генетической регуляции метаболических процессов ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН», г. Москва.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оба оппонента являются компетентными специалистами в области молекулярной генетики, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих учреждений в области молекулярной генетики, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований с использованием репортёрного гена зеленого флуоресцентного белка (eGFP) **доказано**, что структура последовательности,

расположенной в 3’-области гена ниже сайта полиаденилирования, влияет на процессинг пре-мРНК и уровень зрелой мРНК и белка в культивируемых клетках человека HEK293T.

Высказана оригинальная гипотеза, что механизм контроля эффективности процессинга и уровня синтеза зрелой мРНК eGFP зависит от возможности формирования вторичной структуры в 3’-последовательности пре-мРНК eGFP, расположенной после сигнала полиаденилирования.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые изучено влияние структуры последовательности, расположенной в области терминатора транскрипции гена eGFP на уровень зрелой мРНК в культивируемых клетках человека HEK293T, что позволило доказать ее участие в механизме регуляции экспрессии гена eGFP через формирование вторичной структуры в пре-мРНК. Так, **показано**, что на уровень зрелой мРНК eGFP влияет наличие T-, GT- и CT-богатых последовательностей, расположенных на расстоянии 17-40 п.н. после сигнала полиаденилирования. **Доказано**, что стабильность вторичной структуры, формирующейся в данном районе пре-мРНК eGFP, коррелирует с уровнем экспрессии гена и уровнем зрелой мРНК.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработан пакет программ, обеспечивающий поиск новых эффективных последовательностей терминаторов транскрипции РНК-полимеразы II с целью их использования в биотехнологических исследованиях для повышения эффективности синтеза продуктов целевых генов, включающий программную реализацию метода массового параллельного репортёрного анализа (MPRAdecoder), программ предсказания (DoSIA) и поиска (DSEgenerator) функциональных регуляторов процессинга пре-мРНК в 3’-нетранслируемой области генов. Программы находятся в открытом доступе и доступны по ссылкам https://github.com/Code-master2020/MPRAdecoder, https://github.com/AnnLetiagina/DoSIA, https://github.com/AnnLetiagina/DoSIA/tree/main/Example.

Созданы модификации терминатора транскрипции гена растворимого нейропилина-1 (sNRP-1), повышающие уровень экспрессии репортерного гена в пять раз, и не уступающие по эффективности транскрипции широко используемым в биотехнологии терминаторам транскрипции гена бычьего гормона роста (*bGH*) и терминатора раннего вируса SV40 (SV40 early).

Данные, полученные в диссертационной работе, представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического направления, связанных с изучением механизмов регуляции экспрессии генов, при решении биотехнологических задач по получению штаммов-продуцентов целевых продуктов, а также в образовательном процессе при чтении курсов лекций по общей и молекулярной генетике. Результаты диссертационной работы используются в образовательной программе «Тайны жизни: современные достижения в биологии» (альтернативный спецкурс) для студентов 3 курса по направлению 06.03.01 Биология бакалавриата ФЕН НГУ.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий набор современных методов молекулярной генетики, включая молекулярное клонирование, массовый параллельный репортёрный анализ (МПРА), выделение ДНК и РНК, полимеразную цепную реакцию, электрофорез в агарозном геле и трансфекцию культивируемых клеток млекопитающих. Анализ данных МПРА был проведён с помощью собственных программ MPRAdecoder и DoSIA. Использованные методы позволили получить новые данные о влиянии последовательности, расположенной после сигнала полиаденилирования гена, на количество его зрелой мРНК в клетках млекопитающих.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность, которая подтверждается достаточным объемом анализируемого материала, применением современных молекулярно-генетических методов и использованием для анализа данных адекватно подобранных биоинформатических методов. Предсказательная способность

модели DoSIA была продемонстрирована на данных нескольких независимых исследований, в том числе с использованием других модельных объектов. Эффективность влияния последовательностей, сгенерированных с помощью DSEgenerator, на уровень экспрессии репортёрного гена подтверждена двумя независимыми методами: ОТ-кПЦР и сортировкой клеток, активируемой флуоресценцией (FACS).

При обсуждении результатов работы, касающихся влияния последовательности пре-мРНК после сигнала полиаденилирования и её вторичной структуры на количество зрелой мРНК в культивируемых клетках человека, учитывались данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике. Результаты работы статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в проведении научных экспериментов, включая массовый параллельный репортёрный анализ, а также обработке и интерпретации экспериментальных данных с использованием разработанных автором программ, участии в апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Ряд этапов работы выполнен совместно с сотрудниками ИМКБ СО РАН, в том числе, дизайн библиотек для МПРА при участии к.б.н. Пиндюрина А.В. и к.б.н. Болдыревой Л.В., плазмидные библиотеки для МПРА совместно с Яринич Л.А., плазмидные конструкции с терминаторами вируса SV40 early и гена bGH при участии к.б.н. Андреевой Е.Н. Основные научные результаты исследования получены автором самостоятельно.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 9. «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Взаимодействие генов.» и п. 16. «Генетическая/молекулярно-генетическая биоинформатика и методы многомерного анализа» специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация

представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в текущей редакции).

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Летягина А.Е. аргументированно ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 11 февраля 2026 г. диссертационный совет принял решение присудить Летягиной А.Е. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с выявлением роли вторичных структур РНК и последовательностей, расположенных в 3'-нетранслируемой области гена после сайта полиаденилирования, в регуляции эффективности синтеза зрелой мРНК.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.7. – генетика, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета,
доктор биологических наук,
Академик РАН А.В. Кочетов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук Т.М. Хлебодарова

11.02.2026 г.

9