

Отзыв

на автореферат диссертации **Гарафутдинова Равиля Ринатовича**
«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НОВЫХ АМПЛИФИКАЦИОННО-ОПОСРЕДОВАННЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ»,
представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия (химические науки)

Рассматриваемая работа посвящена изучению свойств молекулярных компонентов амплификационных систем и поиску новых подходов и методов в амплификации нуклеиновых кислот (НК). Работа, несомненно, актуальна для исследователей, которые разрабатывают и используют в своей работе различные методы амплификации НК. В этой широкой области исследования имеется большое количество «белых пятен». Впечатляет объем проделанной экспериментальной работы и широта охвата проблем амплификации. Для решения целей и задач автор использовал комплекс методов, включающий как молекулярно-биологические методы (выделение ДНК и РНК, УЗ фрагментацию ДНК, гель-электрофорез, ПЦР, в т.ч. ПЦР в реальном времени), так и биоинформатические методы (моделирование, разработка ПО). Автором представлены новые интересные результаты, среди которых стоит отметить следующие:

1. Выявлено влияние метилирования ДНК на расщепление ультразвуком. Показано, что метилирование цитозина повышает частоту расщепления дцДНК по CpG-сайтам.

2. Показано влияние различных кофакторов ДНК-полимеразы Bst а также условий реакции амплификации на мультимеризацию ДНК. Предложена модель мультимеризации ДНК. Предложены способы устранения этого явления, нежелательного для амплификации целевых последовательностей.

3. На основе мультимеризации предложен новый, более продуктивный способ оценки уровня специфических миРНК, для которого не требуется проведения этапа обратной транскрипции и использования флуорогенных зондов.

4. Предложен и реализован способ проведения конвекционной ПЦР в обычных пробирках объемом 0,2 мл. Данный метод может быть использован в качестве экспресс-альтернативы ПЦР.

5. Разработан и запатентован конвекционный ДНК термоциклер.

6. Разработана и реализована новая программа, позволяющая конструировать праймеры для реакции изотермической амплификации LAMP. Поскольку данная реакция используется в экспресс-диагностике инфекционных заболеваний, например COVID, разработка отечественного этого ПО важна для технологического суверенитета нашей страны.

Достоинством работы является высокое качество иллюстративного материала.

К недостаткам текста автореферата следует отнести некоторые терминологические и стилистические погрешности. Например, автор вводит термин «сближенные праймеры», не поясняя его. В разделе «Цели и задачи» используется термин «структура праймеров», который может пониматься в данном контексте как вторичная структура, т.е. шпильки, тогда как в первую очередь здесь речь идет о последовательности. Используются не совсем корректные термины: «амплификация "катящимся кольцом"» вместо термина «амплификация по типу катящегося кольца», «фальш-праймирование» вместо «ошибочное или ложное праймирование», «цепь-вытесняющая активность ДНК-полимераз» вместо «активность вытеснения или замещения цепи», «свисающий 5'-концевой нуклеотид» вместо общепринятого «выступающий или липкий».

Кроме того, в тексте имеется некоторая недостаточность изложения. Так, из текста не ясна система выбора модельных ДНК, в разделе 1.3. Влияние метилирования CpG на фрагментацию ДНК не совсем понятно, как оценивали полноту метилирования. Хотелось

бы в разделе «Актуальность темы исследования» видеть больше ссылок на литературные источники.

Указанные недостатки критически не снижают качество данной работы.

Представленная работа имеет несомненную практическую значимость, так как полное понимание молекулярных основ амплификации НК позволит оптимизировать существующие и создавать новые технологии тест-систем для амплификации и детекции различных мишеней нуклеиновых кислот для различных целей в первую очередь для обнаружения патогенов и оценки безопасности окружающей среды.

Автореферат дает полное представление о диссертации, об объеме и качестве проделанной экспериментальной и теоретической работы. Работа по актуальности, методическому обеспечению, научной новизне, теоретической и практической значимости, апробации и изложению в рецензируемых научных изданиях полностью соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Гарафутдинов Равиль Ринатович заслуживает присуждения степени ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Зырина Надежда Витальевна,
к.б.н. – по специальности 1.5.3. – молекулярная биология
Научный сотрудник Лаборатории клеточной инженерии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН
142290, г. Пущино Московской обл., ул. Институтская, 3
+7(4967) 73-92-20 (ученый секретарь)
e-mail: zyrina.nv@gmail.com

Я, Зырина Надежда Витальевна, даю согласие на включение в дальнейшую обработку своих персональных данных при подготовке документов аттестационного дела соискателя ученой степени.

16.01.2025 г



Зырина Н.В.



Подпись: Зыриной Н.В.

Удостоверяю-Зав. ОДОУ
О.В. СЕНОТОВА

