

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Гарафутдинова Равиля Ринатовича** «Молекулярные основы новых амплификационно-опосредованных методов анализа нуклеиновых кислот», представленной на соискание степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия» (химические науки)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в своё время произвела революцию в молекулярной биологии и медицинской диагностике и уже почти 40 лет остаётся неисчерпаемым источником для разработки основанных на амплификации полезных методов, особенно диагностических. Это обусловлено исключительной многогранностью и универсальностью ПЦР. Диапазон аналитических задач для ПЦР огромен. Генетический материал присутствует во всех живых организмах – животных, растениях, грибах, бактериях, вирусах. Исследователям приходится сталкиваться с анализами смесей генетического материала различных организмов (метагеномный анализ), анализом повреждённой (фрагментированной) ДНК (например, в ископаемых остатках), а также микроколичеств ДНК (в судебно-медицинской экспертизе), с анализом мутаций и сайтов метилирования. Ферменты, используемые в ПЦР, обладают различной термической стабильностью, процессивностью и точностью, их свойства могут меняться в присутствии различных ионов металлов. В качестве праймеров можно использовать олигонуклеотиды различной длины и состава, в том числе химически модифицированные и сближенные (составные, тандемные) праймеры; правильный подбор праймеров критичен для высокой эффективности ПЦР.

Задачи подобного рода решались Р.Р. Гарафутдиновым в рамках диссертационной работы, содержание которой изложено в автореферате. В первом разделе автореферата описано исследование фрагментирования ДНК под действием ультразвука – его связь с длиной исходной цепочки ДНК, влияние последовательности и сайтов метилирования на образование разрывов. Найдены полезные закономерности, которые можно применять в анализе образцов ДНК.

Второй раздел автореферата содержит исследование процессов амплификации ДНК с помощью праймеров «встык» и регуляции таким образом специфичности и чувствительности амплификации; описан подбор режима циклирования для получения оптимальных результатов. Третий раздел описывает исследование ПЦР с помощью «димеризующихся» праймеров. Четвёртый раздел содержит исследование одного из видов изотермической амплификации ДНК: изучен механизм мультипликации, а также последовательности матрицы и ионов металлов на активность полимеразы Bst.

В объёмном пятом разделе предложены новые основанные на ПЦР методы анализа нуклеиновых кислот, предпосылки для которых созрели в предыдущих разделах.

Чрезвычайно эффективным вариантом анализа является так называемая конвекционная ПЦР, где анализ происходит в стандартных ПЦР-пробирках малого объема, а ПЦР-цикл протекает за секунды! Предложены метод сравнительной оценки статуса метилирования ДНК и метод оценки уровня микроРНК, а также способ обнаружения вирусных РНК. Наконец, в заключительном шестом разделе описывается повышение эффективности ПЦР с помощью углеводных добавок и повышение специфичности петлевой изотермической амплификации.

По тексту и содержанию автореферата замечаний не имеется. Разве только неудачно выглядят «пустые» ссылки вроде [Rifai, 2017]; их можно было дать сноской внизу страницы или прямо в тексте дать doi.

Считаю, что по актуальности, научной новизне, объёму выполненной работы и практической значимости диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук пунктам 2.1–2.5 «Положения о присуждении учёных степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», а её автор, Гарафутдинов Равиль Ринатович, безусловно заслуживает присуждения учёной степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия».

Коршун Владимир Аркадьевич

доктор химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия,
зав. Лабораторией молекулярного дизайна и синтеза ГНЦ ИБХ РАН

e-mail: korshun@ibch.ru

тел.: 8 (499) 724-67-15

Я согласен на обработку моих персональных данных.

13 февраля 2025 г.



Коршун Владимир Аркадьевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный Научный Центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997

e-mail: office@ibch.ru, сайт www.ibch.ru

тел.: (495) 335-01-00 (канц.), факс: (495) 335-08-12,

Подпись Коршуна В. А. заверяю,
Учёный секретарь ИБХ РАН,
доктор физ.-мат. наук



Олейников Владимир Александрович

13 февраля 2025 г.