

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации ДАВЫДОВОЙ АННЫ СЕРГЕЕВНЫ на тему: «Новые моно- и бифункциональные конструкции на основе 2'-F-модифицированных РНК-аптамеров для детекции гемоглобина человека», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия

Диссертационная работа Давыдовой А.С. посвящена получению 2'-F-модифицированных РНК-аптамеров, специфичных к белковым мишеням (гемоглобин, обелин), и их применению для создания биосенсорных тест-систем для количественного определения суммарного и гликированного гемоглобинов. Выбранная тематика актуальна и отражает интересы в области аптамерных технологий. Гибкость в дизайне и последующем синтезе аптамеров позволяет создавать гибридные конструкции из нескольких аптамеров, однако на сегодняшний день не так много работ, посвященных этому перспективному направлению. Работа Давыдовой А.С. является хорошим примером целостного исследования по данному направлению, включающего последовательный путь от проведения SELEX до разработки аптамерной биосенсорной системы. В соответствии с поставленными задачами проведена селекция 2'-F-модифицированных РНК-аптамеров, связывающих суммарный или гликированный гемоглобин человека. Для получения РНК-аптамера, способного участвовать как компонент в цепи генерации биолюминесцентного сигнала, проведена селекция 2'-F-модифицированных РНК-аптамеров к фотопротеину обелину. В обоих случаях получено несколько нуклеотидных последовательностей, для которых были улучшены равновесные константы в результате дальнейших оптимизаций. На основе наиболее аффинного аптамера к гемоглобину и аптамера к обелину создана гибридная биосенсорная конструкция, работающая по принципу переключателя – взаимодействие гемоглобина со специфичным к нему аптамером приводит к доступности связывания второго аптамера для взаимодействия с обелином и генерации люминесцентного сигнала. Для гибридной бифункциональной конструкции показана принципиальная возможность детекции суммарного гемоглобина в диапазоне концентраций 1,56 – 100 нМ. Учитывая микромолярные константы для полученных аптамеров (0,29 мкМ для аптамера, специфичного к гемоглобину, и 1,9 мкМ - для специфичного к обелину), создание биосенсорных конструкторов предложенного бифункционального типа заслуживает внимание как эффективное решение для разработки биоаналитических систем на основе аптамеров с константами в диапазоне 10^{-6} – 10^{-7} М. Полученные результаты являются новыми и оригинальными, представляют интерес для развития аптамерных технологий.

По содержанию работы есть небольшое замечание, не влияющее на высокую оценку работы в целом. В эксперименте с колориметрической детекцией суммарного гемоглобина в

сэндвич-формате с двумя аптамерами приводятся данные с высоким уровнем неспецифического сигнала, что объясняется формированием комплексов между двумя аптамерами. Это вполне возможное объяснение, однако было бы интересно более подробное изучение и подтверждение этой гипотезы (биоинформационный анализ, экспериментальное сравнение образования неспецифических и специфических комплексов при разных условиях).

Работа выполнена с использованием современных инструментальных и методических решений, обеспечивающих высокую информативность и достоверность полученных результатов. В частности, для подтверждения структурных G-квадруплексных мотивов использовали альтернативные взаимодополняющие методы (биоинформационный анализ, КД-спектроскопия, флуоресцентный анализ комплексов с тиюфлавином Т). Для подтверждения специфичности связывания аптамеров с мишенями проведены эксперименты с антителами, специфичными к выбранным мишеням. По результатам работы опубликовано 6 статей в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

Диссертационная работа Давыдовой А.С. представляет собой законченную научно-квалификационную работу и полностью соответствует требованиям, установленным Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН для диссертаций, представленных на соискание ученой степени кандидата наук, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а ее автор, Давыдова Анна Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Старший научный сотрудник
Института биохимии им. А.Н. Баха,
ФИЦ Биотехнологии РАН,
к.б.н. (специальность 03.01.04 – Биохимия),

Сафенкова Ирина Викторовна

Федеральное государственное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН)
Адрес: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, к. 1
1, тел. +7(495)954-28-04,
e-mail: irina.safenkova@gmail.com

