



УТВЕРЖДАЮ

профессор по научной работе

университета ИТМО

профессор

В.О. Никифоров

6 октября 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский университет ИТМО»
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Диссертация: «Распознавание нуклеиновых кислот с использованием многокомпонентных ДНК наноконструкций / Recognition of nucleic acids using multicomponent DNA nanoconstructs».

Соискатель: Эльдиб Ахмед Абделкадер Мохамед Отман.

Диссертация выполнена: химико-биологический кластер, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Диссертация подготовлена в аспирантуре: да.

Период подготовки: с 01.09.2022 по 31.08.2024.

Направление: 06.06.01 – «Биологические науки».

Профиль: 03.01.04 – «Биохимия» (1.5.4 – Биохимия).

Научный руководитель/консультант: Колпашиков Дмитрий Михайлович, кандидат химических наук.

Основное место работы научного руководителя: Университет Центральной Флориды.

Структурное подразделение: Департамент Физических Наук.

Должность: профессор.

Соискатель окончил: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Направление: 19.04.01 – «Биотехнология».

Год окончания: 2021 г.

В период подготовки диссертации соискатель Эльдиб Ахмед Абделкадер Мохамед Отман работал в: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Структурное подразделение: химико-биологический кластер.

Должность: младший научный сотрудник.

По итогам рассмотрения принято следующее заключение:

1. Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации.

Индивидуальный вклад автора в это исследование заключается в проведении тщательного обзора литературы, разработке ДНК-конструкций, а также в проведении экспериментов, описанных в диссертации. Автор был единолично или непосредственно вовлечен в получение всех представленных в работе результатов. Автор лично анализировал и интерпретировал данные с использованием статистических методов, описывал результаты и обсуждал выводы и заключения с научным руководителем и соавторами при подготовке публикаций.

2. Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Для обеспечения и подтверждения высокой степени надежности в работе использован комплекс современных экспериментальных методов исследования и статистики. Научные

положения, выводы и рекомендации основаны на анализе большого количества научной литературы и подтверждены экспериментальными данными. Апробация результатов научного исследования представлена в качестве докладов на 9 конференциях всероссийского и международного уровней.

3. Новизна, научная и практическая значимость.

Впервые было показано, что пороговая концентрация микроРНК маркеров, запускающая активацию ДНК-конструкции, может быть настроена путем изменения количества участков распознавания микроРНК в ДНК-конструкции. Впервые ДНК-конструкции с функциями булевой логики 2AND, 3AND, 2iINHIBIT и 3iINHIBIT были объединены на универсальном ДНК-скаффолде. Эти ДНК-конструкции позволили осуществить расщепление РНК при различных комбинациях маркерных микроРНК согласно таблицам истинности с определенными отношениями сигнала к фону. Впервые было продемонстрировано, что добавление каждого из трех элементов: (1) дополнительных РНК-связывающих участков, (2) функции доставки субстрата и (3) дополнительных каталитических центров в конструкции на основе biDz, значительно снижает предел обнаружения целевой РНК, среди суммарной РНК выделенной из инфицированных клеток.

4. Ценность научных работ.

Результаты работы вносят существенный вклад в развитие ДНК-нанотехнологий для применения в диагностике и лечении заболеваний человека. Разработанные ДНК-конструкции могут быть подстроены под определение нуклеиновых кислот и с высокой специфичностью как к их последовательностям, так и концентрациям, что создает основу для разработки автономных (действующих без участия оператора) конструкций, способных отличать нормальные клетки от раковых. Обнаружение низкой концентрации РНК-аналитов без использования методов амплификации нуклеиновых кислот что может быть использовано в диагностике инфекционных заболеваний человека на месте оказания медицинской помощи (РОСТ).

5. Полнота изложения результатов диссертации в опубликованных соискателем работах. Краткая характеристика научных работ.

Основное содержание диссертации опубликовано в 7 статьях, из них 7 публикаций в изданиях, рецензируемых Web of Science или Scopus.

Научные издания, входящие в международные реферативные базы данных и системы цитирования:

1. Gomes de Oliveira A., Dubovichenko M.V., Eldeeb A.A., Wanjohi J., Zablotskaya S., Kolpashchikov D.M. RNA-Cleaving DNA Threshold Controlled by Concentrations of miRNA Cancer Marker//ChemBioChem, 2021, Vol. 22, No. 10, pp. 1750-1754
2. El-Deeb A., Zablotskaya S., Rubel M.S., Nour M., Kozlovskaya L., Shtro A., Komissarov A., Kolpashchikov D.M. Toward a Home Test for COVID-19 Diagnosis: DNA Machine for Amplification-Free SARS-CoV-2 Detection in Clinical Samples//ChemMedChem, 2022, Vol. 17, No. 20, pp. e202200382
3. Hussein Z., Nour M., Kozlova A.V., Kolpashchikov D.M., Komissarov A., El-Deeb A. DNzyme Nanomachine with Fluorogenic Substrate Delivery Function: Advancing Sensitivity in Nucleic Acid Detection//Analytical Chemistry, 2023, Vol. 95, No. 51, pp. 18667-18672
4. Nour M.A., Kulikova A.V., Wanjohi J., El-Deeb A. Distinguishing High from Low Concentrations of RNA Cancer Marker: Five-Input DNzyme Thresholding Gate//ChemistrySelect, 2023, Vol. 8, No. 48, pp. e202303011
5. Patra C., Eldeeb A.A. Thresholding DNA nanomachine as a highly cooperative and efficient enzyme-like system for controlled RNA cleavage//ChemMedChem, 2023, Vol. 18, No. 7, pp. e202300040
6. Patra C.K., Smirnov V.V., Drozd V.S., Hussein Z., Rybalko D.S., Kozlova A.V., Nour M., Zemerova T.P., Kolosova O.S., Kalnin A.Y., El-Deeb A. Towards the Development of a DNA Automaton: Modular RNA-cleaving Deoxyribozyme Logic Gates Regulated by miRNAs//Analyst, 2024, Vol. 149, No. 6, pp. 1947-1957

7. Nour M., Drozd V.S., Lemesheko E.A., Tafran L., Salimova A.A., Kulikova A.V., Eldeeb A.A. RNase H-dependent DNA threshold modulated by cancer marker concentration//Chemical Communications, 2024, Vol. 60, No. 33, pp. 4427-4430

Представленные научные работы сосредоточены на разработке и применении ДНК-наномашин и ДНК-логических элементов для точной диагностики рака и терапии на основе нуклеиновых кислот. Одной из ключевых разработок является ДНКзим (DTh) с пороговой функцией, который способен эффективно различать высокие и низкие концентрации маркеров РНК, специфичных для раковых клеток. Это позволяет использовать пороговый механизм для таргетной активации генетических терапевтических агентов исключительно в раковых клетках, избегая воздействия на здоровые ткани. Данная технология представлена в ряде статей, где подробно описываются методы увеличения считывания до пяти входных сигналов для расширения пороговых значений детекции маркеров. Это открывает возможности для точной диагностики и контроля активности в системах нанороботов. Другая работа посвящена ДНК-наномашинам, которые выполняют функции доставки и детекции субстратов, обеспечивая высокую чувствительность в процессе распознавания нуклеиновых кислот. В частности, такие системы продемонстрировали улучшение точности и скорости детекции вирусов, включая SARS-CoV-2, что может стать основой для разработки домашних диагностических тестов, не требующих этапов амплификации. Кроме того, исследования описывают пороговые конструкции на основе олигонуклеотидов и ДНКзимов, регулируемых концентрацией онкомаркеров, что позволяет селективно активировать механизмы клеточной гибели в раковых клетках. В совокупности, работы демонстрируют перспективы использования ДНК-логики и ДНКзимов для создания диагностических систем и генетической терапии, обеспечивая высокую избирательность и чувствительность к уровню экспрессии маркеров заболеваний.

Представленные научные работы раскрывают перспективы использования ДНК-зимов и молекулярных машин на основе ДНК для диагностики и терапии рака, а также обнаружения вирусов. В одной из работ описывается конструкция пороговой ДНК-зимы (DTh), которая отличает низкие концентрации РНК-маркеров от высоких, что является важным шагом для повышения селективности генотерапевтических агентов. Эта пороговая система с пятью входными сигналами позволяет контролировать процесс расщепления РНК и может быть использована для диагностики рака, а также как компонент ДНК-нанороботов. Другая работа посвящена разработке ДНК-машины, которая демонстрирует высокую кооперативность и эффективность при управляемом расщеплении РНК. Это устройство может быть использовано для селективного уничтожения клеток, в зависимости от концентрации раковых маркеров, что значительно повышает точность терапии. Важной находкой является то, что система различает маркеры рака с высоким сродством, обеспечивая более точное нацеливание на опухолевые клетки. В контексте диагностики COVID-19, описан новый подход, использующий четырехлучевую ДНК-машину (4DNM) для безамплификационного обнаружения вируса SARS-CoV-2. Эта система способна быстро и точно выявлять вирус даже без этапа амплификации и с пониженной зависимостью от температуры, что открывает возможности для создания тестов для домашнего использования. Другие работы посвящены разработке ДНКзимных логических вентилях, регулируемых концентрацией miRNA. Эти вентили применяют логические операции, такие как AND, OR и NOT, для точного распознавания онкомаркеров и управления экспрессией генов. Инновации в области пороговых конструкций на основе ДНК-зимов создают фундамент для создания ДНК-нанороботов, которые могут использоваться в диагностике и терапии раковых заболеваний. В совокупности, научные работы демонстрируют широкие возможности применения ДНК-зимов и ДНК-наномашин в области биомедицины, включая диагностику онкологических заболеваний и вирусов, а также создание молекулярных систем для высокоточной терапии.

Соискатель Эльдиб Ахмед Абделкадер Мохамед Отман подготовил диссертацию «Распознавание нуклеиновых кислот с использованием многокомпонентных ДНК наноконструкций / Recognition of nucleic acids using multicomponent DNA nanoconstructs», соответствующую критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой

степени кандидата биологических наук по научной специальности 03.01.04 – «Биохимия» (1.5.4 Биохимия).

Диссертация рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия» (1.5.4 Биохимия).

Заключение было принято на заседании комиссии по предварительному рассмотрению диссертаций, допуску к ГИА и подготовке заключений организации на диссертации структурного подразделения: химико-биологический кластер, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

На заседании присутствовало – 5 чел.

Результаты голосования: «за» – 5 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 11 от «22» мая 2024 г.

Ректор Университета ИТМО

Васильев В.Н.

Согласовано

Директор химико-биологического кластера

Хапаева П.П.

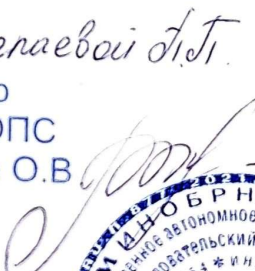
Свидетельство об окончании аспирантуры АСП № 240001

Выдан «22» июля 2024 г.

Подпись

Сотрудника отдела МАИД ИТМО

 / Косых А.А.

Подпись 
удостоверяю
Менеджер ОПС
Пономарева О.В.

