



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе
Университета ИТМО
г.н. профессор

В.О. Никифоров

« 08 » октября 20 14 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация: «Многофункциональные терапевтические олигонуклеотиды для улучшения эффективности и селективности расщепления РНК».

Соискатель: Дубовиченко Михаил Вадимович.

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

Диссертация подготовлена в аспирантуре: да.

Наименование организации, в которой осуществлялась подготовка в аспирантуре: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Период подготовки: с 01.09.2020 по 31.08.2024.

Направление: 06.06.01 – «Биологические науки».

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

Научный руководитель: Колпащиков 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: 2020 г.

В период подготовки диссертации соискатель Дубовиченко Михаил Вадимович работал в: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Структурное подразделение: Химико-биологический кластер.

Должность: инженер.

По итогам рассмотрения принято следующее заключение:

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

Результаты исследований поделены на три подраздела: мультивалентные ДНКзимы, бивалентные АСО и аллостерические ДНК-конструкции. В этих трех частях, во всех этапах исследований, планирование и выполнение экспериментальных работ, обработка результатов и их визуализация с помощью диаграмм и графиков проводились непосредственно автором.

2. Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Эксперименты выполнялись как минимум в трехкратном воспроизведении с использованием современного оборудования для исследовательских работ с нуклеиновыми

кислотами. Используемые методы исследования и расчетов статистически верные. Апробация результатов научного исследования подтверждена 12-ю публичными докладами на конференциях всероссийского и международного уровней за последние три года.

3. Новизна, научная и практическая значимость.

Диссертационная работа Дубовиченко М.В. является первым систематическим исследованием бивалентных Дз, АСО и аллостерических конструкций на основе Дз.

Впервые предложено использование бивалентных ДНК-конструкций на основе Дз и АСО агентов с целью увеличения эффективности расщепления РНК со сложной вторичной структурой. Впервые были изучены факторы, влияющие на эффективность РНК-расщепляющей активности у бивалентных ДНК-конструкций: сродство и число каталитических ядер.

Впервые предложен контроль селективности БивДз за счет изменения степени ассоциации двух субъединиц.

В работе впервые были систематически использованы РНК мишени, сложенные в стабильные вторичные структуры для характеристики АСО агентов.

4. Ценность научных работ.

В диссертационной работе впервые предложено решение дилеммы аффинности/специфичности путем использования многокомпонентных РНК-расщепляющих агентов. Были заложены основы изучения кинетики расщепления структурированных РНК с помощью многокомпонентных конструкций. Прделанная работа является начальным этапом подготовки технологий БивДз, БивАСО, БинДз и БинДМ к использованию их в условиях *in vivo* для подавления специфических РНК мишеней, что может быть использовано как в лабораторной исследовательской практике, так и в разработке подходов терапии генетических, вирусных и онкологических заболеваний.

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

Основное содержание диссертации опубликовано в 10 статьях, из них 3 публикации в изданиях, рецензируемых Web of Science или Scopus.

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

1. Дубовиченко М.В., Колпашиков Д.М. Мультивалентные ДНКзимы, как эффективные агенты для расщепления РНК//Материалы 65-й Всероссийской научной конференции МФТИ в честь 115-летия Л.Д. Ландау - 2023

2. Дубовиченко М.В. НАНОСТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ - 2023

3. Дубовиченко М.В., Бобков Г.А., Батса М., Колпашиков Д.М. МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ ДЛЯ НОКДАУНА ГЕНОВ//IX Международная конференция молодых ученых: вирусологов, биотехнологов, биофизиков, молекулярных биологов и биоинформатиков OpenBio 2022 (Сборник тезисов) - 2022. - С. 517-518

4. Дубовиченко М.В., Колпашиков Д.М. БИВАЛЕНТНЫЕ ДНКЗИМЫ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ ЦЕЛЕВЫХ РНК//Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием - 2022. - С. 19-22

5. Дубовиченко М.В., Колпашиков Д.М., Бобков Г.А., Батса М. RNA-CLEAVING BIVALENT DNA-DEVICES FOR INHIBITION OF GENE EXPRESSION//VIII МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ: БИОФИЗИКОВ, БИОТЕХНОЛОГОВ, МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ И ВИРУСОЛОГОВ Сборник тезисов, 2021

6. Дубовиченко М.В., Kolpashchikov D.M. БИВАЛЕНТНЫЕ ДНК-УСТРОЙСТВА ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ СПЕЦИФИЧНЫХ РНК ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА// СБОРНИК ТЕЗИСОВ VII МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ: БИОФИЗИКОВ, БИОТЕХНОЛОГОВ, МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ И

ВИРУСОЛОГОВ // ПЛОЩАДКА ОТКРЫТЫХ КОММУНИКАЦИЙ «OPENBIO 2020»//Научное издание, Издательско-полиграфический центр НГУ, 2020, pp. 433-435

7. Дубовиченко М.В., Недорезова Д.Д., Колпашиков Д.М. ОПТИМИЗАЦИЯ ДЕЗОКСИРИБОЗИМОВ ДЛЯ РАСЩЕПЛЕНИЯ ГЕНА ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА DAD1//МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС «VII СЪЕЗД ВАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ, ПОСВЯЩЕННЫЙ 100-ЛЕТИЮ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ СПБГУ, И АССОЦИИРОВАННЫЕ СИМПОЗИУМЫ» СБОРНИК ТЕЗИСОВ - 2019. - С. 977-978

Опубликованные работы посвящены четырем подразделам. Обзорная статья в журнале *Theranostics* (Nedorezova et al. 2022) описывает побочные эффекты, возникающие при применении олигонуклеотидных агентов генной терапии, в частности, коротких олигонуклеотидов (киРНК, АСО, ДНКзимы). Особое внимание уделялось побочным эффектам, зависимым от комплементарного связывания олигонуклеотидов с мРНК целевых генов. Данная часть статьи отображена в соответствующем подразделе в части диссертации с литературным обзором. В двух других статьях, выпущенных в журналах *Biol. Life Sci. Forum* и *Nucleic Acid Research* (Batsa et al. 2022 и Dubovichenko et al. 2024), описываются ранее не исследованные бивалентные конструкции на основе ДНКзимов (БивДз), которые продемонстрировали селективное и более эффективное расщепление РНК в участках её вторичной структуры по сравнению с ДНКзимами традиционного дизайна. Были изучены факторы, влияющие на эффективность и селективность расщепляющего действия БивДз, где в первом случае влияние оказывают высокое сродство и большее число каталитических ядер. Содержание обеих статей отражены в первом подразделе части, посвященной результатам. В статье, принятой к публикации в журнале *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* (Dubovichenko et al. 2024) описывается попытка создания бивалентных конструкций на основе БивАСО, которые обладают схожими преимуществами с БивДз. Описания результатов данной статьи отображены во втором подразделе части с результатами в тексте диссертации. Три статьи, две из которых выпущены в журналах *ChemBioChem* и *Chemistry The European Journal* (Nedorezova et al. 2024, Nedorezova et al. 2024), и одна оставшаяся принята к публикации в журнале *ChemBioChem* (Dubovichenko et al. 2024), описывают конструкции на основе ДНКзимов традиционного дизайна и на основе аллостерических (бинарных) ДНКзимов. Первые две статьи в целом посвящены оптимизации молекулярного ДНКзима для расщепления РНК, где особое внимание уделялось расчету кинетики их эндонуклеазных реакций. Последняя статья посвящена аллостерическим ДНКзимам (БинДз) и ДНК-конструкциям на их основе, обладающими несколькими РНК-связывающими доменами (БинДМ). В ней описывалось, что конструкции БинДМ, по сравнению с БинДз, демонстрируют одновременно большую эффективность расщепления РНК за счет большего сродства, и одновременно большую селективность за счет более точного распознавания нуклеотидных замен. Содержание всех трех статей отображено в третьем подразделе главы про результаты, где описываются аллостерические конструкции БинДз и БинДМ.

Соискатель Дубовиченко Михаил Вадимович подготовил диссертацию «Многофункциональные терапевтические олигонуклеотиды для улучшения эффективности и селективности расщепления РНК», 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 № 1 от «22» мая 2024 г.

Ректор Университета ИТМО

Васильев В.Н.

Согласовано

Директор химико-биологического кластера

Хапаева П.П.

Диплом об окончании аспирантуры № 107824
0818032

Выдан: 2024.

Подпись

Сотрудника отдела МАИД ИТМО

Коськин А.А.

Подпись
удостоверяю
Менеджер ОПС
Виноградова А.Д.

