

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана

«Распознавание нуклеиновых кислот с использованием многокомпонентных ДНК-наноконструкций», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия

Диссертация Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана посвящена актуальной и значимой задаче современной биомедицины — разработке ДНК-нанотехнологий для терапии и диагностики онкологических и вирусных заболеваний с использованием молекулярных биомаркеров. Актуальность исследования обусловлена необходимостью создания высокочувствительных и высокоспецифичных подходов к выявлению нуклеиновых кислот — ключевых мишеней в диагностике ряда социально значимых заболеваний.

Особое внимание в работе уделено созданию ДНК-наноконструкций, способных к адресному взаимодействию с РНК-мишенями и обеспечивающих их специфическое расщепление. Это направление представляется перспективным с точки зрения разработки новых молекулярных инструментов как для диагностики, так и для «таргетной» терапии, потенциально адаптируемой для использования в условиях ограниченного доступа к высокотехнологичной инфраструктуре.

Автором рассмотрены подходы к проектированию многофункциональных ДНК-наноструктур, сочетающих в себе каталитические свойства и селективность действия. Подобные системы обладают потенциалом для формирования основ нового поколения диагностических платформ, минимизирующих вероятность ложноположительных и ложноотрицательных результатов. В работе акцент сделан на конструкциях с использованием ДНКзимов и антисмысловых олигонуклеотидов, способных функционировать в условиях близких физиологическим, что повышает их прикладную значимость.

Автор демонстрирует всесторонний подход к валидации разработанных систем, сочетая методы математического моделирования, экспериментальное исследование кинетики взаимодействия ДНК-наноконструкций с РНК-мишенями, а также анализ продуктов реакции с использованием гель-электрофореза.

Такой комплексный подход позволяет глубоко охарактеризовать исследуемые системы и подтвердить их функциональные свойства. Вместе с тем, дальнейшее развитие предложенного подхода потребует детального анализа частоты ложных срабатываний и их сравнения с современными альтернативами.

Полученные результаты отражены в ряде публикаций в международных рецензируемых журналах и были представлены на научных конференциях. Автореферат отличается чёткой структурой и в полной мере передаёт научное содержание и значимость выполненной работы.

К автореферату имеются замечания, связанные с иллюстрацией излагаемого материала.

1) Для детального понимания исследований очень не хватает хотя бы схематического изображения ДНК-конструкций и принципов их действия.

2) Отсутствие иллюстраций вызывает вопросы о том, что представляют собой со структурной и химическо-биологической точек зрения бинарный ДНКазим, используемый ДНК-скафолд,

логический вентиль и элемент доставки субстрата «крючок», а также ДНК-конструкции с пороговой функцией.

3) Что такое РНК-60, и как выбирали к ней последовательности антисмысловых олигонуклеотидов для ДНК-конструкций.

Указанные замечания не снижают научной и практической значимости работы.

Заключение

Диссертационное исследование Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана является законченной научно-квалификационной работой, в которой предложено новое решение научной задачи по разработке и применению многокомпонентных ДНК-конструкций для распознавания нуклеиновых кислот, имеющей важное значение для диагностики и «таргетной» терапии. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Эльдиб Ахмед Абделкадер Мохамед Отман, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

Кубарева Елена Александровна

Главный научный сотрудник отдела химии нуклеиновых кислот
Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»,
доктор химических наук (специальность 02.00.10 – биоорганическая химия), профессор

24 апреля 2025 года

119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, строение 40

Телефон: +7(495)939-54-11

Электронная почта: kubareva@belozersky.msu.ru

Согласна на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Подпись Кубаревой Е.А. заверяю.

Зав. канцелярией НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана
"Распознавание нуклеиновых кислот с использованием многокомпонентных ДНК-
наноконструкций", представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 - Биохимия

Диссертационная работа Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана посвящена разработке ДНК-конструкций (гибридизационных зондов) для детекции биомолекулярных мишеней и оценке их применимости для диагностики заболеваний человека. В качестве мишеней был выбран ряд миРНК человека, для которых показано повышение уровня экспрессии при онкопатологии, а также РНК вируса SARS-CoV-2. Задача по поиску и разработке новых молекулярных инструментов для обнаружения специфических НК-мишеней остается актуальной до сих пор; усилия научных коллективов направлены на достижение максимальной чувствительности и специфичности такого анализа. В связи с этим, диссертационная работа Эльдиба А.А.М.О. имеет не только высокую теоретическую, но и существенную практическую значимость.

Автореферат диссертации построен по традиционной схеме. В нем приведены актуальность, цели и задачи исследования, научная новизна и значимость работы, изложены основные результаты и выводы. Название работы, цели и задачи четко сформулированы. Поставленные задачи решены успешно. Так, разработаны ДНК-конструкции на основе бинарных ДНКзимов и антисмысловых олигонуклеотидов. Показана возможность расщепления ими специфических РНК-мишеней. Определен порог концентрации онкомаркерных микроРНК, а также предел обнаружения вирусной РНК на примере SARS-CoV-2 для активации ДНК-конструкций.

При выполнении работы диссертантом использованы современные методы исследования. В автореферат включено большое количество иллюстраций, отражающих первичные экспериментальные данные. Все полученные результаты характеризуются высокой степенью научной новизны, что подтверждается публикациями в высокорейтинговых журналах. Содержание публикаций соответствует теме исследования. Выводы обоснованы, отражают ключевые результаты.

Замечания. Критические замечания отсутствуют. В качестве недостатка хотелось бы отметить отсутствие в автореферате молекулярных схем процессов, происходящих при расщеплении РНК-мишеней под действием ДНК-конструкций. На мой взгляд, соответствующие иллюстрации значительно упростили бы восприятие материала и обеспечили бы понимание различий между действием ДНК-конструкций разных типов. В тексте автореферата встречаются заметные опечатки, например, в задаче 2 написано

В диссертационный совет ПДС 0300.025
при Федеральном государственном автономном
образовательном учреждении высшего образования
«Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы»
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

ОТЗЫВ

на автореферат Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана на
тему: “Распознавание нуклеиновых кислот с использованием
многокомпонентных ДНК наноконструкций”, представленной к защите
на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.4. Биохимия.

Актуальность исследования Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана обусловлена необходимостью создания новых методов диагностики и терапии онкологических заболеваний через создание инновационных ДНК-конструкций для распознавания нуклеиновых кислот. Разработанные конструкции позволяют дифференцировать концентрации онкомаркеров, обнаруживать вирусные РНК, создавать логические вентили и повышать чувствительность детекции путем интеграции дополнительных функциональных элементов.

Научная новизна работы заключается в создании новых типов ДНК-машин и логических вентилях на основе *biDz*, что позволило значительно повысить эффективность распознавания нуклеиновых кислот. Особенно ценным является создание многокомпонентных конструкций, способных работать по принципу логических элементов и выполнять сложные вычислительные операции при распознавании биомаркеров.

В работе Эльдиба Ахмеда Абделкадера М.О. впервые продемонстрирована возможность дифференциации низких и высоких концентраций онкомаркерных микроРНК путем изменения числа сайтов связывания и созданы интегрированные ДНК-конструкции с функциями булевой логики на универсальном ДНК-скаффолде.

Разработанные конструкции имеют высокую практическую значимость для ранней диагностики онкологических и вирусных заболеваний, создания новых терапевтических подходов, развития технологий генной терапии и совершенствования методов молекулярной диагностики.

Результаты исследования рекомендованы для использования в разработке диагностических и терапевтических подходов для онкологических и вирусных заболеваний, а также для расширения применения ДНК-зондов в

биомедицине. Рекомендовано проведение дальнейшей модификации ДНК-конструкций для снижения порога чувствительности и увеличения эффективности расщепления РНК-мишеней.

Научные положения, выводы и рекомендации обоснованы комплексным методическим подходом, включающим компьютерное моделирование, биохимические и физико-химические методы анализа. Все выводы логически обоснованы и подтверждены экспериментальными данными.

Основные результаты работы опубликованы в рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science.

Автореферат написан четким научным языком, содержит всю необходимую информацию и отражает все основные положения диссертационной работы.

Заключение. Диссертационное исследование Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи разработки многокомпонентных ДНК-наноконструкций для распознавания нуклеиновых кислот, имеющей важное значение для развития методов диагностики и терапии заболеваний. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № УС-1 от 22.01.2024г., а её автор Эльдиб Ахмед Абделкадер Мохамед Отман заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Заместитель генерального
директора по перспективным
научным разработкам, ФГБУ
«НМИЦ онкологии» Минздрава
России, д.м.н. (14.01.12 - Онкология
(мед. науки)) профессор
«7» апреля 2025 г.

Максимов Алексей Юрьевич

Подпись Максимова А.Ю.
удостоверяю.
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ
онкологии» Минздрава* России,
д.б.н., профессор

Дженкова Елена Алексеевна

«7» апреля 2025 г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана

**«РАСПОЗНАВАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ДНК НАНОКОНСТРУКЦИЙ»,**

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы выполненной работы. Специфичное взаимодействие нуклеиновых кислот является основой для большого количества диагностических и исследовательских протоколов, что значительно расширяет методическую базу биомедицинских исследований и разработок. В частности, гибридизационные ДНК-зонды обладают высокой специфичностью по отношению к целевым последовательностям, благодаря чему ряд их разработан для распознавания маркеров генетических и вирусных заболеваний. Диссертационная работа, представленная для рецензирования, посвящена разработке и характеристике новых комплексных молекулярных конструкций для таргетной детекции и гидролиза онко- и вирус-специфических мишеней. С учетом этого, актуальность работы не вызывает сомнений.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В работе впервые показано, что эффективная концентрация микроРНК маркеров, запускающая активацию ДНК-конструкции, может быть направленно изменена при помощи модуляции количества участков специфического распознавания. Впервые четыре ДНК-конструкции объединены на универсальном ДНК-скаффолде, что позволило осуществить расщепление таргетной РНК при различных комбинациях маркерных микроРНК. Впервые продемонстрировано, что добавление дополнительных РНК-связывающих участков, функции доставки субстрата и дополнительных каталитических центров в конструкции на основе ДНКазы *biDz* существенно снижает предел обнаружения целевой РНК среди суммарной РНК, выделенной из инфицированных клеток.

Значимость для науки и практики полученных результатов.

Разработанные в результате исследования подходы позволяют практически неограниченно расширить спектр целевых патологий для их диагностики и лечения. Полученные данные являются существенным вкладом в развитие ДНК-нанотехнологий для диагностики и лечения заболеваний человека и животных. Сформулированные в ходе работы закономерности активности разработанных ДНК-конструкций позволяют проводить их тонкую настройку для определения специфических нуклеиновых кислот как с точки зрения их нуклеотидной последовательности, так и концентраций, что создает основу для разработки автономных конструкций, способных отличать нормальные клетки от раковых. Обнаружение низкой концентрации РНК-аналитов без использования методов амплификации нуклеиновых кислот может быть использовано в диагностике инфекционных заболеваний человека во время оказания медицинской помощи.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Данные, полученные в ходе исследования, могут быть использованы в дальнейшей разработке диагностических и терапевтических средств контроля онкологических и вирусных заболеваний, а также в целом позволяют расширить

область применения ДНК-зондов в биомедицине. На основе представленных результатов возможно дальнейшее исследование кинетики взаимодействия активных ДНК-модулей с микроРНК, а также миниатюризация и интеграция ДНК-конструкций в портативные устройства для экспресс-анализа.

Замечания по работе.

1. При формулировке цели работы указано - «в контексте терапевтического использования». Однако ни в задачах исследования, ни в результатах, связи с терапией не прослеживается. Работа выполнена на бесклеточных моделях, в условиях, когда целевые РНК не связаны со структурными белками, как это имеет место в живой клетке. В частности, в этих условиях оптимизирована ДНК-конструкция путем введения четырех участков связывания с РНК, что, по утверждению автора, способствует раскручиванию вторичных структур РНК. Насколько такая модель релевантна той комбинации компонентов, которая присутствует в условиях реальной вирусной инфекции в клетке и тем более в организме? Будут ли предлагаемые подходы работать при переходе от бесклеточной системы к моделям *in vitro* и *in vivo*? То же касается концентрационных закономерностей, выявленных в ходе исследования. Концентрации нуклеиновых кислот, использованные в работе, находятся в микро- - пиколярном диапазоне. Соответствует ли это тем значениям, которые присутствуют в живых клетках?

2. В работе описываются несколько ДНК-конструкций и их активность, однако не приводятся, даже схематично, нуклеотидные последовательности этих конструкций. В случае вирус-специфических РНК как мишеней – на какие вирусные гены и их участки направлены ДНК-конструкции?

3. Положения 1 и 2, выносимые на защиту, было бы логичнее объединить.

4. Термин «окносупрессивных» (стр.5) следует заменить на «онкосупрессивных»

5. Термин «молекулярное компьютерное моделирование» (стр.10) следовало бы заменить.

6. В тексте встречается термин «частота оборотов» применительно к активности молекулярных конструкций. Следует пояснить, что имеется в виду под этим термином.

7. Подпись к рисунку 2 следует значительно расширить. В частности, следует указать концентрации miR-17 и пояснить, что такое F24 и C+.

8. Подпись к рис. 10 следует также расширить, в том числе привести соответствующие значения Ct для отрицательных образцов 1-5.

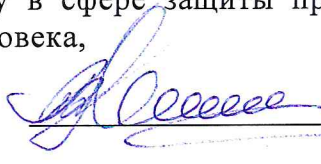
Закключение. Диссертационное исследование Эльдиба Ахмеда Абделкадера Мохамеда Отмана «Распознавание нуклеиновых кислот с использованием многокомпонентных ДНК наноконструкций» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи разработки и оптимизации комплексных ДНК-конструкций, имеющей важное значение для расширения арсенала диагностических и терапевтических средств контроля патологий человека. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024г., а её автор, Эльдиб Ахмед Абделкадер Мохамед Отман, заслуживает

присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв подготовлен:

Заведующим лабораторией экспериментальной вирусологии
Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-
Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,

доктором биологических наук



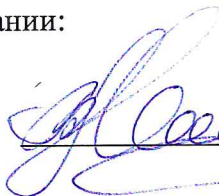
В.В. Зарубаевым.

E-mail: zarubaev@pasteurorg.ru, тел.: +7 (812) 644-63-79

Отзыв обсужден и одобрен на заседании лаборатории экспериментальной вирусологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 09 апреля 2025 г., протокол № 1.

Председательствующий на заседании:

Заведующий лабораторией
экспериментальной вирусологии, д.б.н.



В.В. Зарубаев.

Подпись Зарубаева В.В. заверяю.
Начальник отдела кадров
ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии им. Пастера



Л.В. Чебакова

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, 197101
Тел.: +7 (812) 644-63-17, +7 (812) 644-63-43
E-mail: pasteur@pasteurorg.ru

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации El-Deeb Ahmed Abdelkader Mohamed Othman «RECOGNITION OF NUCLEIC ACIDS USING MULTICOMPONENT DNA NANOCONSTRUCTS», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

В настоящее время в фундаментальной биологии для исследовательских целей и в практической медицине для терапевтических целей начинают широко применяться технологии гибридизации зондов нуклеиновых кислот с РНК. Актуальность и научно-практическая значимость данной диссертации определяется отсутствием эффективной и универсальной технологии получения ДНК-нанороботов со встроенными сенсорными и вычислительными модулями, направленными на диагностику и терапию заболеваний. El-Deeb Ahmed Abdelkader Mohamed Othman в своей работе применил нестандартные подходы ДНК-нанотехнологий для разработки нового поколения гибридизационных терапевтических и диагностических зондов. Эти подходы используют уникальные свойства нуклеиновых кислот к распознаванию определенных последовательностей заданных мишеней и взаимодействию с ними, что необходимо для разработки целевых специфических и чувствительных инструментов диагностики и терапии.

Цель диссертации – разработка многокомпонентных ДНК-конструкций для их применения в диагностике заболеваний человека и оценка способности этих конструкций вызывать биомаркер-зависимое расщепление РНК-мишеней.

Работа посвящена подтверждению гипотезы о правомерности того, что мультифункциональные ДНК-нанороботы, обладающие способностью распознавать и анализировать множественные маркеры заболеваний, могут осуществлять адресную деструкцию маркера заболеваний на основе РНК. Таким образом, исследование направлено на совершенствование сенсорных и вычислительных функций ДНК-наноробота. Объектом изучения стали многокомпонентные гибридизационные зонды – ДНК-конструкции, а предметом – чувствительность ДНК-конструкций к обнаружению аналита РНК и активность расщепления целевой РНК в присутствии высоких концентраций или специфических комбинаций онкомаркеров. В работе использованы современные экспериментальные подходы, включающие в себя прогнозирование вторичной структуры с помощью приложения RNA Folding Form сервера Mfold, сборку ДНК-конструкций с изучением их свойств, флуоресцентный анализ на основе ДНКзима, анализ расщепления РНК на основе ДНКзима, анализ расщепления РНК, зависимость от РНКазы и др.

Работа продемонстрировала, что сложные многокомпонентные ДНК-конструкции могут эффективно распознавать биологически значимую РНК, закладывая основу для применения ДНК-нанотехнологий и молекулярных ДНК-нанороботов в обнаружении и терапии заболеваний. Ценность данной работы заключается в том, что разработанные ДНК-конструкции распознают концентрации и паттерны аналитов нуклеиновых кислот автономно, без участия человека-оператора,

что создает основу для разработки ДНК-наноробота по анализу для различения здоровых и нездоровых клеток.

Недостатком технологии является отсутствие адресной доставки ДНК-нанороботов, поскольку в условиях организма их вход может стать неконтролируемым и ДНК-роботы будут входить не только в клетки-мишени, но и в здоровые клетки, где могут вызывать неблагоприятные эффекты.

Определение вторичной структуры фрагментов РНК и их термодинамические параметры были определены с помощью приложения RNA Folding Form сервера Mfold требует пояснения. Обычно программа выдает несколько вариантов вторичной структуры. Каким образом был выбран единственный вариант вторичной структуры, который был представлен в диссертации?

В целом данные замечания не умаляет ценность представленной диссертации, а лишь предлагают дальнейшее развитие технологии разработки ДНК-нанороботов.

В автореферате подробно описано современное состояние проблемы, приведено обоснование актуальности темы исследования, четко сформулированы цели и задачи, исчерпывающе показаны результаты их успешного достижения, сделан ряд методологических выводов. Все эксперименты выполнены на современном техническом уровне и с надлежащим контролем качества.

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 7 – в журналах WoS/Scopus и 11 тезисов докладов.

Представленная в автореферате диссертация по актуальности и новизне, поставленным задачам и показанным результатам соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. Автор диссертации El-Deeb Ahmed Abdelkader Mohamed Othman заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

ФГБОУ ВО "Красноярский государственный медицинский университет
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого"

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Лаборатория биомолекулярных и медицинских технологий

Доктор биологических наук

1.5.4. – Биохимия

Ведущий научный сотрудник

Адрес:

660036 г. Красноярск, Партизана Железняка 13.

Тел.: +7(905) 973 73 86

E-mail: olga.kolovskaya@gmail.com

 Колдовская Ольга Сергеевна

Подпись <u>О.С. Колдовской</u>	
УДОСТОВЕРЯЮ: специалист отдела кадров:	
<u>Юркина</u> (подпись)	<u>Юркина</u> (расшифровка подписи)
«16»	04 2025 г.

