



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта  
Российской академии наук  
(ИМБ РАН)

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,  
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: [isinfo@eimb.ru](mailto:isinfo@eimb.ru)  
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

28.04.2022 № 12312-9311

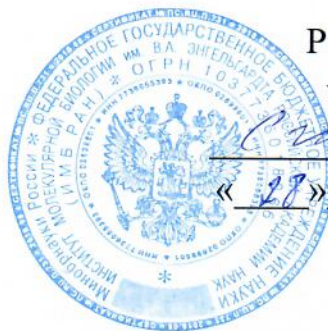
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального  
Государственного бюджетного  
учреждения науки Института  
молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта  
Российской академии наук  
член-корреспондент РАН

С.Г. Георгиева

« 28 » 04 20 22 г.



**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертацию Дольского Александр Алексеевича «Некодирующие РНК в патогенезе заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой», представленной к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

**Актуальность темы исследования и ее связь с планами отраслевой науки**

Диссертационная работа Дольского Александра Алексеевича посвящена исследованию роли некодирующих РНК в патогенезе заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой. Такие заболевания связаны с увеличением количества повторенных единиц CGG в 5'-НТО мРНК гена *FMR1*. Выделяют 3 основных аллеля этого гена: норма, премутация и полная мутация. Все эти варианты отличаются размером повтора и активностью гена. В случае



премутации у пациентов могут развиваться синдром атаксии и тремора, а также у женщин первичная овариальная недостаточность, ассоциированная с ломкой X-хромосомой. У носителей полной мутации развивается синдром ломкой X-хромосомы. Стоит отметить высокую частоту этих аллелей в популяции человека и отсутствие информации о механизмах развития, связанных заболеваний. Кроме того, имеются данные о том, что размер CGG повтора не связан с тяжестью заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой. Вместе с тем, недавно продемонстрировано возможное участие микроРНК как в регуляции активности гена *FMR1*, так и патогенезе этих синдромов. В связи с этим, актуальность выбранной темы диссертационной работы Дольского А.А. не вызывает сомнений.

Диссертационная работа Дольского А.А. выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы, проводимой в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

#### **Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автором представлены новые интересные данные об участии микроРНК в регуляции активности гена *FMR1*. Большинство данных получено впервые. Так, например, на большой выборке клеточных линий В-лимфоцитов с широким разнообразием вариантов гена *FMR1*, отличающихся размером CGG повтора и активностью этого гена, проведено исследование уровня экспрессии микроРНК, выбранных на основе имеющихся данных о взаимодействии с 3'-НТО мРНК гена *FMR1*. В результате получена информация об уровне экспрессии hsa-miR-182-5p, hsa-miR-23a-3p, hsa-miR-25-3p, hsa-miR-148a-3p, hsa-miR-139-5p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-302a-3p в зависимости от активности гена *FMR1*. Автором проведен анализ взаимодействия выбранных микроРНК с последовательностью 3'-НТО мРНК гена *FMR1*. Были получены данные об уровне экспрессии hsa-miR-182-5p, hsa-miR-25-3, hsa-miR-139-5p в головном мозге мышинной модели FXTAS. В результате, впервые показано, что hsa-miR-139-5p изменяет свою



экспрессию в ответ на изменение активности гена *FMRI* у модельных животных и в клеточных линиях В-лимфоцитов.

Полученные данные имеют фундаментальное значение и вносят существенный вклад в современное представление о регуляции активности гена *FMRI* и возможных механизмах заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой. Таким образом, научная новизна представленной работы несомненна.

### **Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов**

Работа Дольского А.А. имеет важное практическое значение. Дело в том, что miR-139-5p может быть использована как диагностический маркер заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой. Поскольку заболевания FXTAS и FXPOI развиваются в позднем возрасте, изучение роли микроРНК может лечь в основу создания новых методов ранней диагностики этих заболеваний. Это в свою очередь поможет носителям премутантного аллеля начать раннюю медикаментозную терапию для купирования проявления синдромов в случае риска их возникновений. Кроме того, автор провел дизайн и сборку плазмидной конструкции, которая позволяет провести анализ взаимодействия микроРНК с целевой последовательностью гена-мишени, что несомненно, можно применить в других аналогичных работах по исследованию роли микроРНК.

### **Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и заключений.**

Достоверность полученных результатов обеспечена применением современной научно-методической базы, в экспериментах соблюдается контроль условий. Воспроизводимость результатов работы доказана использованием технических и биологических повторов и применением адекватных методов статистической обработки полученных результатов. Цель и задачи исследования



сформулированы четко и соответствуют названию и профилю диссертации.

Выводы корректны и полностью соответствуют полученным результатам. Положения, выносимые на защиту, сформулированы кратко и убедительно и отражены в соответствующих главах. Обсуждение результатов выполнено на основании современных представлений по изучаемой проблеме. В работе автор ссылается на современную и актуальную научную литературу.

Работа прошла широкую апробацию на 6 международных конференциях, а ее результаты отражены в 5 публикациях в рецензируемых изданиях из списка ВАК.

### **Общая оценка работы**

Диссертационная работа Дольского А.А. построена по классической схеме. Она состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы», «Результаты и обсуждения», общего заключения, выводов, списка литературы, четырех приложений к диссертационной работе, а также благодарностей. Работа изложена на 141 странице, включает 11 рисунков, 7 таблиц, 4 приложения. Список литературы включает 233 источника.

В целом работа производит очень хорошее впечатление. Работа четко спланирована, выполнен огромный объем экспериментальных исследований как на клеточных культурах, так и на модельных животных. Также детально описана сборка и схема работы генетических конструкций, которые позволили автору провести анализ взаимодействия микроРНК с 3'-НТО мРНК гена *FMR1*. Работа отличается глубиной, последовательностью и тщательностью изложения. Текст хорошо структурирован и написан хорошим русским языком.

**Введение** включает необходимые, обоснованные и сформулированные разделы, отражающие актуальность проблемы исследования, цели и задачи работы, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию и методы исследования, положения выносимые на защиту, степень достоверности и апробации результатов, список публикаций и объем диссертации, а также личный вклад автора. Автор убедительно обосновал



актуальность исследования, четко сформулировал цели и задачи, а также положения, выносимые на защиту.

**Обзор литературы** состоит из пяти глав и заключения. В первой главе подробно разобраны этапы изучения заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой, что дает представления о современных актуальных проблемах в данной области знаний. Во второй главе детально разобраны главные клинические проявления синдрома ломкой X-хромосомы, первичной овариальной недостаточности и синдрома атаксии и тремора, ассоциированных с ломкой X-хромосомой. Помимо этих главных заболеваний, автором рассмотрены современные представления о дополнительных нейropsychиатрических расстройствах, ассоциированных с ломкой X-хромосомой, что дает комплексное представление о заболеваниях связанных с экспансией CGG повтора в гене *FMR1*. В третьей главе рассмотрены современные гипотезы о механизмах патогенеза заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой. В этой главе представлены данные о значимости изучения роли микроРНК в регуляции активности гена *FMR1* и их роли в патогенезе синдромов. В четвертой главе представлена информация о особенностях строения и функциях некодирующих РНК, рассмотрена их классификация, а также рассмотрены этапы биогенеза микроРНК. Пятая глава посвящена разбору современных исследований роли микроРНК в работе центральной нервной системы, а также роли микроРНК в развитии заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой. Все главы обзора литературы, а также его заключение дают детальное представление о современном состоянии дел в этой области науки, а также актуальности темы исследования, поставленных целях и задачах диссертационной работы Дольского А.А.

**Материалы и методы** описаны подробно и полностью соответствуют решаемым задачам. Для достижения цели автором были использованы современные методы молекулярной биологии (выделение нуклеиновых кислот,



ПЦР для GC-обогащенных матриц, ПЦР в реальном времени на основе систем SYBRgreen, а также TaqMan, анализ уровня белка, секвенирование), биотехнологии (сборка генетических конструкций на основе плазмидной ДНК), цитологии (работа с культурами перевиваемых клеточных линий), а также методы работы с лабораторными животными, что в результате обеспечило выполнение поставленных задач.

**Результаты и обсуждение** разделены на шесть разделов. В них представлены фактические данные, полученные в ходе проведения диссертационного исследования. Очень подробно описаны все этапы работы, обоснованы сделанные выводы, имеются с логическими переходы от одного раздела к другому.

Выносимые на защиту научные положения и выводы диссертации обоснованы, подтверждены полученными экспериментальными данными и согласуются с поставленными целью и задачами.

### **Замечания к диссертационной работе**

1. В тексте в небольшом количестве присутствуют не совсем корректные или неточные выражения, а также некоторое количество опечаток.
2. Обзор литературы содержит всего три рисунка, что несколько затрудняет понимание изложенного материала. Текст воспринимался бы намного легче, если бы автор более подробно проиллюстрировал основные данные касающиеся функционирования и структуры гена *FMR1*.
3. В начале раздела результатов автор приводит план работы, что очень удобно для понимания сути исследования. Однако, он почему-то это делает в будущем времени: будут исследованы, будут проведены и т.д. Рациональней было бы описать эти же этапы в прошедшем времени, так как эта работа уже проделана диссертантом.
4. В работе анализировался уровень кодирующей мРНК и белка FMRP в разных линиях клеток. Автор приводит сравнительную таблицу 3 с полученными

относительными характеристиками. Однако помимо таблицы было бы очень полезно привести сырые данные (в виде гистограмм и данных белковых электрофорезов, например), которые бы показали абсолютные значения, полученные при анализе линий, и статистические значимые различия, так как в таблице эти данные продемонстрировать невозможно.

Однако, следует заметить, что высказанные замечания не являются принципиальными и не влияют на общую положительную оценку работы.

### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат диссертации полностью отражает ее содержание, включает все основные разделы, текст четко структурирован, результаты проведенных исследований хорошо проиллюстрированы.

### **Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати**

Основные результаты, изложенные в диссертации, представлены в 5 публикациях в рецензируемых изданиях, соответствующих требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

### **Заключение**

Диссертационная работа Дольского Александра Алексеевича «Некодирующие РНК в патогенезе заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой», представленная к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлены новые данные о вовлеченности микроРНК в регуляцию активности гена *FMR1* и развитии заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой.

По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых




степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Отзыв обсужден и одобрен на семинаре Лаборатории механизмов и контроля трансляции Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук.

Семинар прошел 30 марта 2022 (протокол № 12).

Отзыв составила:

Ведущий научный сотрудник  
Лаборатории механизмов и контроля трансляции,  
кандидат биологических наук  
Электронная почта: [alkalaeva@eimb.ru](mailto:alkalaeva@eimb.ru)

  
Алкалаева Е.З.  
«28» 04 2022 г.

Подпись Алкалаевой Е.З. удостоверяю  
Ученый секретарь ИМБ РАН  
кандидат ветеринарных наук



  
Бочаров А.А.

Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

Почтовый адрес: ГСП-1, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН

Тел.: +7(499) 135-23-11, +7(499)135-11-60

Адрес официального сайта: <https://www.eimb.ru/>

Электронная почта: [isinfo@eimb.ru](mailto:isinfo@eimb.ru)