

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Бодулева Олега Леонидовича  
«Методы количественного определения микроРНК  
с применением хемилюминесцентной детекции»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук  
по специальности 1.5.6 – «Биотехнология»

Работа Бодулева О.Л. относится к исследованиям в области биоаналитической химии и биотехнологии. В работе, прежде всего, рассматриваются методы количественного определения коротких рибонуклеиновых биополимеров класса микроРНК с применением хемилюминесцентной детекции. МикроРНК относятся к биогенным молекулам, активно вовлеченным в сетевую регуляцию экспрессии генов. Известно, что уровень экспрессии многих микроРНК специфичен тому или иному патологическому состоянию, и на основе микроРНК можно ожидать создания малоинвазивных тест-систем биоматериала пациентов с высокой прогностической силой. Важно отметить, что определение целевой микроРНК, в особенности в гетерогенных образцах биоматериала, сопряжено с рядом трудностей. Они связаны с короткой нуклеотидной последовательностью микроРНК и высоким структурным сходством между разными микроРНК, что требует применения аналитических методов с высокой селективностью. Также микроРНК часто имеют крайне низкий уровень представленности в клетке, что требует анализа с низким пределом обнаружения. Повышение качества оценки уровня микроРНК в образцах является принципиальной задачей с высокой научной и практической значимостью.

В работе Бодулева О.Л. поставлена цель разработки новых высокочувствительных и высокоспецифичных методов количественного определения микроРНК с хемилюминесцентной детекцией, как безамплификационных, так и с применением амплификационной реакции каталитической сборки шпилек (КСШ). Достижение цели в работе осуществляется с применением широкого спектра современных методов молекулярной биологии, физической и аналитической химии, а также биотехнологии, включая выделение, иммобилизацию, отжиг и фракционирование нуклеиновых кислот, синтез конъюгатов антител с магнитными частицами, спектроскопию кругового дихроизма, хемилюминесцентные методы, методы культивирования эукариотических клеток. В результате, в работе Бодулева О.Л. не только развиты высокочувствительные методы определения микроРНК-141, микроРНК-155 и микроРНК-39, но и предложен новый формат реакции каталитической сборки

шпилек, названный «каталитическая сборка шпилек с высвобождением олигонуклеотида» (КСШВО). Более того, в работе показана применимость разработанных подходов к анализу микроРНК в лизатах целой серии культивируемых клеток человека – HepG2, Caco2, MCF7 и HeLa. В совокупности это существенно повышает надежность и значимость представленных результатов.

Работа Бодулева О.Л. вызывает очень хорошее впечатление после прочтения. Это, безусловно, сильная работа. Однако к работе есть несколько небольших замечаний. 1) В работе Бодулева О.Л. проводится анализ, главным образом, 3 микроРНК – микроРНК-141, микроРНК-155 и микроРНК-39. Автору следует более явно пояснить выбор именно этих микроРНК для разработки методов детекции. Возможно, это связано с их регуляторным значением в клетке, их важностью как потенциальных биомаркеров заболеваний, архитектурой нуклеотидной последовательности микроРНК или уровнем их экспрессии в клетках. 2) В работе Бодулева О.Л. недостаточно четко указано число образцов в группах сравнения и параллельных опытов в экспериментах. Было бы полезно охарактеризовать статистическую значимость отличий, которые автор обнаруживает, в частности, при сравнении аналитических параметров определения микроРНК-155 (рис. 7) и зависимостей хемилюминесцентного сигнала от различных концентраций NaCl и MgCl<sub>2</sub> (рис. 3). 3) В работе приводится сравнение методов анализа микроРНК, однако для большей наглядности его стоило бы табулировать, например, по показателям селективности, точности, пределу обнаружения и кросс-реактивности. 4) Бодулев О.Л., по понятным причинам, уделяет особое внимание преимуществам разработанных методов, однако было бы полезно охарактеризовать и потенциальные ограничения, которые автор видит в методах. Не исключаю, что следующим шагом Бодулева О.Л. и коллектива могло бы стать патентование методов, так как в числе публикаций по теме диссертации патенты не представлены.

Вышеизложенные замечания ни в коей мере не умоляют уровня, качества и значения работы Бодулева О.Л., а скорее являются пожеланиями на будущее. Результаты исследований Бодулева О.Л. опубликованы в 8 статьях, в том числе в *Analytical Chemistry*, *Talanta* и *Biosensors* с импакт-фактором более 5, и представлены на многочисленных научных конференциях. Это доказывает высокую степень достоверности и апробированности работы, а также высокую приоритетность полученных результатов.

В заключение, следует отметить, что работа Бодулева О.Л. обладает безусловной научной и практической значимостью. Работа полностью соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней в

государственном университете имени М.В. Ломоносова к работам, представленным к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а вышедший на защиту Бодулев Олег Леонидович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. – «Биотехнология».

старший научный сотрудник  
Лаборатории молекулярной генетики человека  
Отдела генетических основ патологических процессов  
Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»  
(НИЦ «Курчатовский институт»)

Адрес: 123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 2

Телефон: 7 [REDACTED]

E-mail: [REDACTED]@yandex.ru

кандидат биологических наук  
по специальности 1.5.3. (03.01.03) - «молекулярная биология»

Филиппенков Иван Борисович

Дата составления: 28.11.2023

Подпись Филиппенкова И.Б. заверяю

Главный ученый секретарь  
НИЦ «Курчатовский институт»



Борисов Кирилл Евгеньевич