

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу З.О. Мовсесян по теме «ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ЛИГАНДОВ С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПОЛИРИБОНУКЛЕОТИДАМИ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.02 — «Биофизика, биоинформатика»

Неканонические структуры нуклеиновых кислот, в частности РНК обладают функциональным и структурным полиморфизмом. Эти системы способствуют образованию петель, которые перемежают канонические двуспиральные элементы внутри свернутых глобулярных молекул РНК, соединяют вместе различные структурные элементы, служат системами распознавания для других молекул и действуют как места внутренней жесткости или лабильности, участвуют в регуляции экспрессии генетического материала, учитывая разные уровни его организации. Интерес к изучению структурных и функциональных свойств РНК в настоящее время возрос в связи с тем, что она играет важную роль в процессах, обеспечивающих жизнедеятельность клетки, также есть исследования, доказывающие участие в этиологии многочисленных патологических процессов. Неканонические формы РНК зачастую являются мишенью для профилактических и терапевтических агентов, например, для многих противоопухолевых соединений, в том числе и для тех, которые непосредственно связываются с ДНК (ДНК-специфические лиганды). В этом аспекте исследования, взаимодействие таких лигандов с РНК могут стать значимыми и с фундаментальной научной, и с практической точки зрения.

Природные РНК в основном состоят из одной нити и могут принимать различные пространственные структуры, вплоть до третичной и четвертичной форм. Это ограничивает исследования по взаимодействию лигандов с дц-формой РНК. Однако, полиадениловая (poly(A))-полиуридиловая (poly(U)) кислота, в определенных условиях существует в дц-форме, что делает этот синтетический полинуклеотид хорошей моделью для биофизических исследований гомополимерных и дц-РНК с известными противоопухолевыми низкомолекулярными лигандами. Исследования по взаимодействию различных биологически активных соединений с олигонуклеотидами продолжают оставаться актуальными, несмотря на то, что эти системы в последние пять десятилетий являются объектом пристального исследования, но тем не менее, в последние десятилетия возрос интерес к биофизическим исследованиям процессов с участием РНК, которое связано с функциональным и структурным полиморфизмом этой биомолекулы.

Диссертационная работа З. Мовсисян посвящена исследованиям взаимодействия специфических к дц-структурам НК лигандов, интеркаляторов бромистого этидия (БЭ), метиленового синего (МС) и желобкового соединения Hoechst 33258 с одноцепочечными poly(rA) и poly(rU) и выяснения их влияния на гибридизацию комплементарных цепей poly(rA)-poly(rU).

Диссертационная работа состоит из введения и трех глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, насчитывающего 137 наименований оригинальных публикаций. Диссертация изложена на 125 страницах, включает 29 рисунков и 6 таблиц.

Во введении обосновываются актуальность темы, цели и задачи исследования.

**В первой главе** представлен литературный обзор, в котором приведены данные о структурах РНК, poly(rA) и poly(rU), а также по взаимодействию малых молекул с нуклеиновыми кислотами. Особое внимание уделено механизмам связывания лигандов, а также представлены данные о структуре и функциях, разработанных в последние два-три десятилетия биосенсоров и биочипов на основе нуклеиновых кислот. Представленные в этой главе данные являются достаточно информативными и служат той основой, на которой в дальнейшем было построено настоящее исследование. Ознакомление с этой главой оставляет благоприятное впечатление об осведомленности диссертанта с новейшей литературой в области исследования.

**Вторая глава** посвящена материалам и методам исследования. В этой главе приводятся технические характеристики использованных препаратов, буферных растворов и приборов. Дается подробное описание методов исследования синтетических полинуклеотидов poly(rA), poly(rU) и образовавшихся между ними poly(rA)-poly(rU) (дц-структура РНК) а также комплексов с лигандами: это методы абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии, УФ плавления, расчетные методы Скетчарда, статистический анализ полученных данных.

Примененные методы являются достаточно информативными и взаимодополняющими для исследований структурных изменений биополимеров при взаимодействии с лигандами.

**Третья глава** посвящена результатам исследования и их обсуждению. Проведены многочисленные эксперименты для достижения целей представленных задач.

Впервые полученные данные выявляют некоторые важные аспекты взаимодействия различных внутриклеточных, а также введенных во внутрь, синтетических биологически активных соединений с оц-участками РНК, с гомонуклеотидными последовательностями. Полученные данные по взаимодействию лигандов с poly(rA), poly(rU) и с образовавшимся между ними poly(rA)-poly(rU) сравниваются с результатами их комплексов с дц-ДНК.

которые изучены и теоретически, и экспериментально, и помогают выявить различные аспекты молекулярных механизмов воздействия низкомолекулярных соединений на генетический материал. Полученные данные указывают, что БЭ в большей степени, по сравнению с МС, стимулирует гибридизацию poly(rA) с poly(rU), что зависит от ионной силы раствора, а H33258, являющийся дц-специфическим лигандом, практически не влияет на процесс гибридизации. МС полуинтеркаляционным, а также электростатическим способами предпочтительнее связывается с оц-poly(rA), чем с poly(rU): с последней полуинтеркаляционный способ связывания не выявлен.

В работе представлен также теоретический метод анализа комплексообразования лигандов-интеркаляторов. Исследованные лиганды с одноцепочечными полинуклеотидами, а также двухцепочечным poly(rA)-poly(rU) связываются по крайней мере двумя способами – полуинтеркаляционным и электростатическим. При этом, при взаимодействии БЭ с двухцепочечным poly(rA)-poly(rU) проявляется также интеркаляционный способ связывания.

В заключительной части диссертационной работы автором обобщены полученные данные и на их основании сформулированы выводы, которые полностью отражают результаты исследований.

Результаты исследований автора докладывались на международных научных конференциях и отражены в 9 научных публикациях, которые полностью соответствуют содержанию диссертации и включены в работу. Работа сформулирована на высоком научном уровне, автореферат полностью отражает содержание диссертации, выводы исходят из результатов диссертации.

У меня есть некоторые вопросы к диссертанту:

1. Имеют ли место конформационные/структурные изменения в одноцепочечных poly(rA) и poly(rU) в исследованных буферных растворах с различными ионными силами?
2. Почему Вами не исследовано тушение флуоресценции, для более полноценной оценки механизмов связывания лигандов с НК?
3. Не вопрос, а пожелание, в дальнейшем провести исследования по связыванию лигандов с каноническими структурами нативной РНК, что важно при их взаимодействии с лекарственными препаратами *in vivo*. Есть ли подобные исследования в литературе?

Представленная работа выполнена на высоком профессиональном уровне, хотя и не лишена технических недостатков, которые, однако никоим образом не унижают ценность и значимость проведенной работы З. Мовсисян.

Данное исследование диссертанта по теме «Изучение комплексообразования различных лигандов с синтетическими полирибонуклеотидами» вносит существенный вклад в область актуальных исследований взаимодействий низкомолекулярных соединений с нуклеиновыми кислотами; полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.02 - "Биофизика, бионформатика"

Заведующая кафедрой медицинской биохимии и биотехнологии  
Российско-Армянского университета,  
кандидат биол. наук, доцент

Оганесян А.А.

Подпись к.б.н. А.А. Оганесян заверяю  
ученый секретарь к.ф.н.



Р.С. Касабабова

20.11.2023 г