

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.218.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ УФИМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 24 сентября 2025 года № 6

О присуждении Ахметзяновой Лиане Ульфатовне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Моделирование реакции петлевой изотермической амплификации и создание компьютерных программ дизайна праймерных систем» по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки) принята к защите 16 июня 2025 года (протокол заседания № 3) диссертационным советом 24.1.218.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (450054, город Уфа, Проспект Октября, 71, лит. 1Е; сайт организации: <http://ufaras.ru/>). Создание диссертационного совета утверждено приказом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 271/нк от 13 ноября 2018 года.

Текст диссертации размещён на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук 28 мая 2025 года (<http://ufaras.ru>)

Соискатель Ахметзянова Лиана Ульфатовна родилась 23 июня 1992 года в г. Уфа. С 2009 по 2013 гг. обучалась на технологическом факультете в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уфимский государственный университет экономики и сервиса». Получила квалификацию «Бакалавр» по направлению «Технологические машины и оборудование». В 2015 году Ахметзянова Л.У. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уфимский государственный нефтяной технический университет» по специальности 131000 «Нефтегазовое дело». Присвоена квалификация магистра.

В период с 01 октября 2019 г. по 30 сентября 2022 г. обучалась в аспирантуре по очной форме обучения в Уфимском федеральном исследовательском центре Российской

академии наук и активно выполняла исследование по теме диссертации в лаборатории структуры и функций биополимеров Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ИБГ УФИЦ РАН). Сведения о сданных кандидатских экзаменах по дисциплинам «История и философия науки» (биологические науки) от 12 марта 2025 года, «Иностранный язык (английский)» (биологические науки) от 03 марта 2025 года (Справка № 22-25 от 12 марта 2025 года), по специальности «Молекулярная биология» (биологические науки) от 19 декабря 2024 года прилагаются к личному делу (Справка № 40/652.3 от 05 марта 2025 года).

В период подготовки диссертации и по настоящее время занимает должность младшего научного сотрудника лаборатории структуры и функций биополимеров ИБГ УФИЦ РАН.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов ИБГ УФИЦ РАН, Чемерис Алексей Викторович.

Официальные оппоненты

Рыкова Елена Юрьевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции экспрессии генов Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН. 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева д. 10, сайт: <https://www.icgbio.ru/>, e-mail: atos@bionet.nsc.ru, тел.: +7(913) 456-48-36;

Грядунов Дмитрий Александрович - доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией технологий молекулярной диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН. 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32, сайт: <http://www.eimb.ru/>, e-mail: grad@biochip.ru, раб. тел. +7(499) 135-23-11

дали положительные отзывы на диссертацию (отзывы прилагаются).

Официальный оппонент, доктор биологических наук Рыкова Елена Юрьевна в своём положительном отзыве, отмечая актуальность, новизну, научную и практическую значимость работы, озвучила следующие вопросы и замечания:

1. По мнению автора, какой из типов продуктов реакции LAMP обеспечивает более эффективное её протекание? Можно ли повысить скорость и эффективность реакции, варьируя зоны отжига праймеров?

2. Вопрос по результатам биоинформатического анализа проведенного нанопорового секвенирования продуктов LAMP: были ли выявлены какие-либо особенности в структуре этих продуктов?

3. Почему в качестве примера для демонстрации возможностей праймеров, подобранных с помощью разработанных программ, использовали кДНК вируса Y картофеля, а не исходную РНК этого вируса?

4. С чем связан необычный характер кривых амплификации при анализе микроРНК Тае-mir-159 по технологии ligLAMP? Чем обусловлен подъем кривых в начальный период реакции?

Официальный оппонент, доктор биологических наук Грядун Дмитрий Александрович в своём положительном отзыве, отмечая новизну и практическую значимость работы, озвучил следующие замечания и вопросы:

1. Основной акцент сделан на моделировании и *in silico* тестировании программ. Экспериментальные данные по использованию разработанных праймеров представлены ограниченно, что может затруднить оценку эффективности инструментов в реальных лабораторных условиях.

2. Какие ограничения имеют созданные программные продукты? Например, возможен ли дизайн праймеров для мультиплексной реакции? Есть ли возможность предотвратить неспецифическую амплификацию, особенно в нестандартных вариантах LAMP?

3. Всегда ли модель LAMP-циклов $Z6 \rightarrow Z9 \rightarrow Z6$ способна предсказать образование побочных продуктов, например, тупиковых лампликонов?

4. Вероятность самопраймирования зависит от GC-состава. Насколько точно можно ее смоделировать?

5. На рисунке 35 в ligLAMP эффективность лигирования зависит от типа лигазы, а на рисунке 36 в mirLAMP реакция идёт даже без мишени. Какие направления оптимизации mirLAMP/ligLAMP могут быть применены?

В отзывах официальных оппонентов дано заключение, что диссертационная работа Ахметзяновой Лианы Ульфатовны «Моделирование реакции петлевой изотермической амплификации и создание компьютерных программ дизайна праймерных систем» по специальности 1.5.3 - Молекулярная биологии (биологические науки) является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора

биологических наук, профессора, главного научного сотрудника лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов Института биохимии и генетики УФИЦ РАН, Чемериса Алексея Викторовича, которая вносит важный вклад в развитие молекулярной биологии, биоинформатики и молекулярной диагностики. На основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно определить как новое достижение в молекулярной биологии, в частности, в амплификации нуклеиновых кислот и её использовании в целях молекулярной диагностики. Диссертационная работа Ахметзяновой Лианы Ульфатовны отвечает критериям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, а её автор Ахметзянова Л.У. заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки).

Соискатель Ахметзянова Лиана Ульфатовна дала исчерпывающие ответы на вопросы оппонента д.б.н. Рыковой Елены Юрьевны и д.б.н. Грядунова Дмитрия Александровича, которые полностью удовлетворили оппонентов.

На вопросы оппонента д.б.н. Рыковой Елены Юрьевны Ахметзянова Лиана Ульфатовна дала следующие ответы: по 1 вопросу, протекание LAMP происходит за счёт образующихся основных гантелеобразных структур типа Z6_dmb, без которых протекание LAMP невозможно. Они и обеспечивают ее наибольшую эффективность. Остальные нетупиковые лампликоны ведут к образованию тех же или большего размера гантелеподобных структур, но именно основной тип Z6_dmb вносит наибольший вклад. Повысить скорость и эффективность реакции можно путём сближенного расположения праймеров, увеличения их числа, но не в ущерб их специфичности. Допускается варьировать расстояния между зонами праймеров и это может положительно сказаться на протекании амплификации. При удачном дизайне праймеров можно добиться наибольшей скорости накопления продуктов реакции, однако скорость синтеза цепей ДНК зависит все же от скорости работы полимеразы, которая отличается при построении новой цепи по одноцепочечной ДНК и по двухцепочечной ДНК, вытесняя существующую цепь, что несколько замедляет процесс, и это можно и нужно учитывать. Вопрос 2: структура продуктов LAMP в целом соответствовала ожидаемым, т.е. в них чередовались зоны ABCD в том порядке, который можно ожидать для этих продуктов. Часть ридов содержала последовательности с неожиданной структурой, например, присутствовали только зоны C и D. Наличие таких структур требует дополнительного исследования, которое мы дальше планируем проводить. Вопрос 3: образец кДНК был любезно

предоставлен нам сотрудником института, к.б.н. Михайловой Еленой Владимировной. Работы с кДНК вируса Y картофеля проводили в зимнее время, вне сезона, когда можно найти биоматериал, содержащий сам вирус. Мы в целом и не задавались целью детектировать этот вирус, а использовали кДНК как модельную нуклеиновую кислоту. кДНК более устойчива, она одноцепочечная, что способствует достоверному протеканию LAMP. Вопрос 4: мы предполагаем, что это связано с особенностью приготовления соответствующих образцов. А именно, за счёт использования полиэтиленгликоля при лигировании проб HP-R и HP-L. Известно, что полиэтиленгликоль влияет на протекание амплификации. И в целом такие подъёмы кривых в начальный период реакции наблюдаются достаточно часто, особенно при низком содержании интеркалирующего красителя, работающего «на грани» чувствительности, но повышать его концентрацию нельзя, поскольку это может привести к ингибированию ДНК полимеразы.

В ответе Ахметзяновой Лианы Ульфатовны на вопросы д.б.н. Грядунова Дмитрия Александровича прозвучало следующее: вопрос 1 - с замечанием согласна. Планируется дальнейшая экспериментальными отработка и оценка эффективности разработанных программ. Вопрос 2: за счёт свободного изменения параметров работы программы, позволяющих создавать нестандартные наборы праймеров, принципиально возможно проведение мультиплексной реакции. Неспецифическая амплификация может быть предотвращена в некоторой степени за счёт исключения образования праймерами гомо- и гетеродимеров. Однако полностью исключить протекание неспецифической амплификации в изотермических условиях, похоже, невозможно. Ранее в нашей лаборатории было показано, что ДНК-полимеразы с цепь-вытесняющей активностью склонны вести неспецифический ДНК-синтез и в этом случае нужно опираться на информацию о времени подъёма флуоресценции отрицательных и положительных контролей. 3 вопрос: да, способна. В целом, это следует из логики протекания реакции. Однако на поздних стадиях реакции возникают множественные одноцепочечные участки ДНК, которые способны как самоотжигаться, так и образовывать с комплементарными цепями двухцепочечные молекулы ДНК почти непредсказуемым образом, но их вклад будет весьма невелик по сравнению с ожидаемыми продуктами. 4 вопрос: смоделировать и исключить вероятность самопраймирования возможно благодаря улучшенному дизайну праймеров, исключающих образование гомо- и гетеродимеров, за счет отсутствия в праймерах повторяющихся последовательностей, при этом праймеры не должны нести на 3'концах GC-богатые последовательности и в этом случае можно ожидать наиболее эффективное протекание LAMP-реакции без неспецифической амплификации до определённого времени протекания этой реакции, что позволяет говорить о LAMP как

специфичном процессе. 5 вопрос: если говорить о технологии ligLAMP, то здесь оптимизация может затронуть выбор наиболее подходящей лигазы и условий лигирования. В технологии mirLAMP требуется очень тщательный дизайн ДНК-матриц, поэтому возможно дополнительное совершенствование ее внутренней части, которое обеспечило бы большую специфичность анализа, а также введение неких экстрапоследовательностей в зону «комплементарной миРНК».

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН) в своём положительном отзыве, составленном научным сотрудником лаборатории клеточной инженерии ИТЭБ РАН, кандидатом биологических наук Зыриной Надеждой Витальевной, и утверждённом кандидатом биологических наук, заместителем директора по науке и инновациям Белослудцевой Натальей Валерьевной, указала что по актуальности, новизне, разнообразию методических подходов, объёму выполненных задач, теоретической и практической значимости полученных данных диссертационная работа Л.У. Ахметзяновой «Моделирование реакции петлевой изотермической амплификации и создание компьютерных программ дизайна праймерных систем» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной проблемы — моделирование динамики молекулярных компонентов реакции LAMP, разработка на основе полученных знаний новых типов реакции и компьютерных программ для конструирования праймеров, имеющей существенное значение для научной специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

При изучении и коллективном обсуждении диссертационной работы Ахметзяновой Л.У. были сформулированы следующие замечания:

1. В разделе 2.3. «Моделирование LAMP-реакции и программы подбора LAMP-праймеров» обязательно следовало указать, с помощью каких программ или плагинов/макросов к программам и т.д., осуществлялось моделирование формирования ампликонов LAMP, даже если программы были «home made», а также возможности ознакомления с ними.

2. В разделе 2.4.3. «Петлевая изотермическая амплификация» следовало бы указать ссылку на концентрации НК в реакции.

3. В разделе 2.4.5. «Нанопоровое секвенирование лампликонов» необходимо хотя бы краткое описание пробоподготовки, а также указание организации, в которой проведено секвенирование.

4. В главе III «Обсуждение результатов» не совсем понятно — рисунок 9 авторский или [Gandelman et al.]? Если рисунок цитируется, то в подписи под рисунком указывается автор.

5. В разделе 3.1. «Новая номенклатура продуктов LAMP» рисунок 10 — один из ключевых, должен быть более подробным и понятным не только специалистам, занимающимся реакцией LAMP, но и всем интересующимся этой темой исследователям. Из текста выше и подписей к рисунку не очевидно положение зон X и Y, что подразумевается по зоной Z, что стоит за обозначениями мишеней T1, T2 и т.д. Не указано на рисунке положение праймеров LF и LB. Подпись к данному рисунку следовало сделать более детальной.

6. В разделе 3.1.2. «Типы продуктов в LAMP-реакции» при экспериментальном подтверждении (с. 67) не совсем понятно кто и как делал биоинформатический анализ, нет этих данных и в Главе II.

Отвечая на вопросы ведущей организации, Ахметзянова Л.У. отметила: вопрос 1 - моделирование лампликонов и типов лампликонов проводилось без использования каких-либо программ, что называется «вручную». Вопрос 2: для препаратов РНК коронавируса и микроРНК пшеницы измерить концентрации непосредственно мишеней практически невозможно либо это должно быть отдельным исследованием. К тому же проводились модельные эксперименты, в которых оценивались не количественные показатели, а анализировались другие моменты и при этом использовалось одинаковое количество этих мишеней для всех образцов в отдельно взятых экспериментах. Что касается кДНК вируса Y картофеля, то его концентрацию действительно можно было измерить, но нам этот препарат был предоставлен нашим коллегой и мы ориентировались на информацию, полученную от неё. При этом также при детекции этого вируса с помощью LAMP-амплификации проводились модельные эксперименты, не направленные на определение чувствительности метода. Вопрос 3: с замечанием согласна, это моё упущение. Подготовка образцов для секвенирования велась следующим образом. Образцы после LAMP очищались с помощью коммерческого набора для выделения ДНК из реакционных смесей, высушивались и отправлялись на секвенирование в компанию «Клонинг Фасилити» (Россия, Москва). Вопрос 4: рисунок является нашим, авторским. Вопрос 5: подпись к рисунку можно было сделать более подробной, однако не стала этого делать, поскольку в начале данного раздела в тексте очень подробно расписаны все этапы и все типы продуктов, включая зоны мишени с соответствующими обозначениями. И это было бы дублированием информации. Возможно стоило в подписи к рисунку в конце добавить слова «см. пояснения в тексте». Вопрос 6: нами совместно с коллегами из Института

механики УФИЦ РАН был проведён первичный биоинформатический анализ результатов секвенирования с помощью собственных алгоритмов/скриптов.

Диссертационная работа и отзыв на неё обсуждены и одобрены на заседании секции «Биотехнология и биобезопасность» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН), протокол № 2/25 от 31 июля 2025 г.

В заключении отмечается, что по актуальности, новизне, разнообразию методических подходов, объёму выполненных задач, теоретической и практической значимости полученных данных диссертационная работа Л.У. Ахметзяновой «Моделирование реакции петлевой изотермической амплификации и создание компьютерных программ дизайна праймерных систем» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной проблемы — моделирование динамики молекулярных компонентов реакции LAMP, разработка на основе полученных знаний новых типов реакции и компьютерных программ для конструирования праймеров, имеющей существенное значение для научной специальности 1.5.3. Молекулярная биология. Работа выполнена на высоком методическом уровне и отвечает всем требованиям, установленным п. 9-11,13,14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, а её автор, Лиана Ульфатовна Ахметзянова, заслуживает присвоения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Соискателем по материалам диссертационной работы опубликовано 15 научных трудов, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, из них 4 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах WoS/Scopus, имеются две зарегистрированные базы данных. Получено 5 свидетельств о регистрации программ для ЭВМ.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени кандидата наук работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Публикации посвящены моделированию стандартной реакции петлевой изотермической амплификации и её модификации с использованием дополнительных внутренних праймеров, новому программному обеспечению для подбора праймеров для петлевой изотермической амплификации - LAMPprimers iQ, применению

алгоритма Ахо-Корасик для подбора LAMP-праймеров, параллельной реализации алгоритма поиска праймеров для реакции LAMP.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Akhmetzianova L.U.**, Mikhaylenko C.I., Chemeris D.A., Khairitdinov V.D., Sakhabutdinova A.R., Gubaydullin I.M., Garafutdinov R.R., Chemeris A.V. Modeling a Standard Loop-Mediated Isothermal Amplification Reaction and Its Modification Involving Additional Inner Primers // *Biomolecules*. 2025. 15(5). 690. (WoS, Scopus, BAK, Q1).
2. **Akhmetzianova L.U.**, Davletkulov T.M., Sakhabutdinova A.R., Chemeris A.V., Gubaydullin I.M., Garafutdinov R.R. LAMPprimers iQ: New primer design software for loop-mediated isothermal amplification (LAMP) // *Anal. Biochem.* 2023. 684. 115376. (WoS, Scopus, BAK, Q3).
3. **Ахметзянова Л.У.**, Давлеткулов Т.М., Гарафутдинов Р.Р., Губайдуллин И.М. Применение алгоритма Ахо-Корасик для подбора праймеров для петлевой изотермической амплификации // *Мат. биол. биоинформ.* 2022. 17(2). 250-265. (Scopus, BAK, Q4)
4. **Ахметзянова Л.У.** Компьютерная программа подбора праймеров для LAMP-амплификации // *Adv. Eng. Res.* 2024. 24(1). 98-108. (BAK).
5. **Akhmetzianova L.U.**, Davletkulov T.M., Gubaidullin I.M., Islamgulov A.R. Parallel implementation of the primer search algorithm for loop-mediated isothermal amplification // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2021. 2131(2). 022004. (Scopus, Q4).

На диссертацию и автореферат поступило 3 отзыва:

1. Отзыв кандидата биологических наук, научного сотрудника сектора компьютерного анализа и моделирования биологических систем Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, **Богомолова Антона Геннадьевича**. Отзыв положительный, есть одно замечание: На мой взгляд, диссертационная работа существенно выиграла бы от публикации в открытом доступе программ LAMPprimers iQ_loop, mirLAMP, ligLAMP, MIP- LAMP. Это повысила бы её практическую ценность.
2. Отзыв кандидата биологических наук, научного директора ООО «НПФ Синтол» **Алексеева Якова Игоревича**. Отзыв положительный, имеет 2 вопроса: 1. Какой предел по размеру образования продуктов амплификации? 2. Рассчитывалась ли, или возможно планируется рассмотрение кинетики процесса амплификации LAMP?
3. Отзыв кандидата биологических наук, научного сотрудника лаборатории биохимии и химической патологии белка Научно-исследовательского института биомедицинской

химии имени В.Н. Ореховича (ФГБНУ ИБМХ) **Птицына Константина Георгиевича**. Отзыв положительный. Замечаний и вопросов нет.

Соискатель Ахметзянова Лиана Ульфатовна ответила на все замечания, указанные в отзывах на автореферат диссертации. Отвечая на замечание **Богомолова Антона Геннадьевича** по поводу публикации в открытом доступе новых разработанных программ, соискатель ответил, что планируется разработка сайта, где бесплатно, в онлайн режиме будет предоставлен доступ ко всем новым программам.

Отвечая на вопросы **Алексеева Якова Игоревича**, о пределе по размеру образования продуктов амплификации, было отмечено, что реакция LAMP идёт пока работает ДНК-полимераза. В эксперименте был получен продукт Z111, в течении примерно 30 минут протекания реакции. По поводу расчёта кинетики процесса амплификации LAMP, соискатель ответил, что в пределах диссертационной работы кинетика LAMP не рассматривалась, но вне работы попытки были и работа с кинетикой будет продолжаться.

Во всех отзывах на автореферат отмечается, что работа Ахметзяновой Лианы Ульфатовны является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи, имеющей важное значение для биологической науки. Отмечено, что диссертационная работа выполнена в полном объёме на высоком научном и методическом уровне, выводы диссертации достоверны и полностью отражают поставленные задачи. Во всех отзывах указано, что диссертационная работа отвечает критериям п. 9- 11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, а её автор Ахметзянова Лиана Ульфатовна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки) (отзывы прилагаются).

Выбор официальных оппонентов обосновывается следующим:

Рыкова Елена Юрьевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции экспрессии генов Федерального исследовательского центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), является высококвалифицированным специалистом в области функционального анализа генетических вариантов микроРНК, структуры, биогенеза и функций микроРНК, метилирования микроРНК, выявлении злокачественных образований и противоопухолевой терапии. Рыкова Е.Ю. является автором научных статей,

посвящённых изучению роли метилирования микроРНК m6A в патогенезе злокачественных опухолей, поиску и функциональному анализу генетических вариантов в сайтах связывания микроРНК с помощью массового параллельного репортерного анализа, геномных и транскриптомных исследований в области обнаружения и применения циркулирующих маркеров колоректального рака. Привлечение данного оппонента связано с темой диссертации и полученными в исследовании результатами.

Грядунов Дмитрий Александрович - доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией технологий молекулярной диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, является высококвалифицированным специалистом в области разработки технологий анализа ДНК- и белковых маркеров патогенеза, новых методов генотипирования бактерий, изучении молекулярных механизмов лекарственной устойчивости микроорганизмов и вирусов, молекулярной диагностике, молекулярной эпидемиологии, филогенетике микроорганизмов, генетике нейродегенеративных заболеваний. Привлечение данного оппонента связано с темой диссертации и полученными в исследовании результатами.

Выбор ведущей организации обусловлен тем, что в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН) проводят научные исследования по направлениям, соответствующим теме диссертационного исследования в области биотехнологий и биобезопасности, математической биофизики, нанотехнологий и биоробототехники, нейронауки, биоэнергетики, биомедицины. Результаты работ данного коллектива широко известны как в российских, так и международных научных кругах.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

предложена новая система обозначений зон отжига LAMP-праймеров, которая значительно облегчает понимание их структуры и обеспечивает более точный подбор праймерных систем, особенно для неклассических вариантов реакции; новый алгоритм подбора LAMP-праймеров обеспечивает более высокую специфичность обнаружения с их помощью НК-мишеней; новые варианты реакции LAMP обеспечивающие достоверное обнаружение мРНК с помощью данного метода;

показана принципиальная возможность обнаружения специфических НК-мишеней с помощью специфичных LAMP-праймеров, сконструированных разработанными

компьютерными программами: LAMPrimers iQ, LAMPrimers iQ_loop, LigLAMP, miRLAMP, MIP-LAMP;

доказано, что результаты работы облегчают понимание структуры LAMP-праймеров и продуктов реакции, процесс подбора праймеров, особенно для неклассических вариантов реакции. Предложенные варианты LAMP обеспечивают расширение спектра мишеней, которые можно обнаружить данным методом. Разработанные компьютерные программы расширяют арсенал программных средств для дизайна LAMP-праймеров, обеспечивают более высокую специфичность обнаружения НК-мишеней благодаря оптимизированному алгоритму их подбора;

выявлено, что практически во всех наиболее популярных программах дизайна LAMP-праймеров имеется ограничение на длину анализируемого участка, далеко не все подбирают петлевые праймеры, не исключают повторяющиеся, подряд идущие нуклеотиды в одном праймере, а также не исключают образования димерных структур как в самом праймере, так и в сформированном наборе;

создано пять компьютерных программ для дизайна специфичных LAMP-праймеров: LAMPrimers iQ, LAMPrimers iQ_loop, LigLAMP, miRLAMP, MIP-LAMP.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

раскрыто, что удлинение ДНК-цепей происходит в пределах одного LAMP-цикла и описывается уравнением $Z_i = 2Z_{i-1} - 3$. Помимо основного LAMP-цикла $Z_6 \rightarrow Z_9 \rightarrow Z_6$, при протекании LAMP-реакции на ее дальнейших стадиях реализуются LAMP-циклы большего размера ($Z_9 \rightarrow Z_{15} \rightarrow Z_9$, $Z_{15} \rightarrow Z_{27} \rightarrow Z_{15} \dots$).

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан и экспериментально апробирован новый алгоритм подбора LAMP-праймеров, включающий оригинальную математическую модель расчёта температуры отжига и позволяющий задавать более строгие критерии для оптимизации праймерных систем, компьютерные программы для дизайна LAMP-праймеров расширяют арсенал инструментов, доступных для научных и диагностических лабораторий, позволяя быстро и эффективно подбирать специфичные праймеры для различных вариантов LAMP-реакции. Основные результаты диссертационной работы в полной мере представлены в пяти публикациях в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus и в «Белом списке» научных журналов Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Созданные программные продукты защищены свидетельствами о регистрации программ для ЭВМ;

создано пять компьютерных программ дизайна LAMP-праймеров для разных вариантов реакции. Тестирование функционала показало высокую скорость и гибкость выполнения задач при различных параметрах;

показана принципиальная возможность обнаружения специфических НК-мишеней с помощью праймеров, сконструированных разработанными компьютерными программами;

получено 5 свидетельств о регистрации программ для ЭВМ.

1. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022617417 от 20.04.2022. «LAMPprimers iQ (Loop-mediated isothermal amplification Primers iQ)». Авторы: Л.У. Ахметзянова, Т.М. Давлеткулов, Р.Р. Гарафутдинов, А.В. Чемерис, И.М. Губайдуллин.

2. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № № 2023662840 от 14.06.2023. «Дизайн праймеров для петлевой изотермической амплификации (LAMPprimers iQ_loop)». Авторы: Л.У. Ахметзянова, Т.М. Давлеткулов, В.Д. Хайритдинов, Р.Р. Гарафутдинов, И.М. Губайдуллин.

3. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2025617292 от 25.03.2025 Дизайн олигонуклеотидных шпилечных структур для лигирования на поддерживающей матрице и последующей LAMP-амплификации (LigLAMP). Авторы: Л.У. Ахметзянова, Р.Х. Арсланова, В.Д. Хайритдинов, Р.Р. Гарафутдинов, А.В. Чемерис.

4. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2025615182 от 03.03.2025 Дизайн праймеров для LAMP-амплификации микроРНК (miRLAMP). Авторы: Л.У. Ахметзянова, Р.Х. Арсланова, В.Д. Хайритдинов, Р.Р. Гарафутдинов, А.В. Чемерис, И.М. Губайдуллин.

5. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2025663243 от 27.05.2025. Дизайн множественных внутренних праймеров для петлевой изотермической амплификации (MIP-LAMP). Авторы: Л.У. Ахметзянова, В.Д. Хайритдинов, Р.Р. Гарафутдинов, А.В. Чемерис.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что достоверность полученных результатов подтверждается проведением исследований на репрезентативных выборках, с использованием сертифицированного оборудования и применением методов, соответствующих современным стандартам и общемировым требованиям, автором проведён большой объём экспериментальных исследований, которые отличаются высоким уровнем чувствительности и объективности. Обработка данных была выполнена

с использованием программного обеспечения, необходимого для проведения биоинформатического и статистического анализа экспериментальных данных.

Корректность и высокий научный уровень проведённых исследований подтверждены публикацией основных результатов исследования в высокорейтинговых международных рецензируемых журналах. Материалы диссертации также были представлены на всероссийских и международных конференциях, конгрессах и конкурсах.

Теория работы построена на известных, надёжно верифицируемых данных и фактах, согласующихся с ранее опубликованными материалами по теме диссертации;

использованы современные данные научных исследований по теме диссертации, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, а также информация из баз данных для сравнения полученных в работе данных с результатами предшествующих исследований;

установлена сопоставимость результатов настоящего исследования с данными, полученными в других, более ранних работах зарубежных и отечественных научных коллективов;

использовано современное оборудование с применением соответствующих мировому уровню исследований методов молекулярной биологии и биоинформатики.

Личный вклад соискателя заключается в определении темы диссертационной работы, цели и задачи исследования проводились автором совместно с научным руководителем. Автор оптимизировал номенклатуру и смоделировал структуру продуктов LAMP-реакции, разработал новые варианты реакции и смоделировал соответствующие молекулярные схемы. Автор разработал пять компьютерных программ для подбора LAMP-праймеров, систематизировал результаты исследования.

В ходе защиты диссертации критические замечания высказаны не были, заданы вопросы уточняющего и конкретизирующего характера. Соискатель Ахметзянова Лиана Ульфатовна ответила на все вопросы в ходе заседания.

На заседании 24 сентября 2025 года Диссертационный совет пришёл к выводу, что совокупность защищаемых положений позволяет заключить, что диссертация Ахметзяновой Лианы Ульфатовны «Моделирование реакции петлевой изотермической амплификации и создание компьютерных программ дизайна праймерных систем» имеет большое научное и практическое значение, результаты работы облегчают понимание структуры LAMP-праймеров и продуктов реакции, процесс подбора праймеров, особенно для неклассических вариантов реакции. Предложенные варианты LAMP обеспечивают

расширение спектра мишеней, которые можно обнаружить данным методом. Разработанные компьютерные программы расширяют арсенал программных средств для дизайна LAMP-праймеров, обеспечивают более высокую специфичность обнаружения НК-мишеней благодаря оптимизированному алгоритму их подбора. Они могут применяться в научно-исследовательских учреждениях и лабораториях, занимающихся амплификацией нуклеиновых кислот, например, при решении ряда задач молекулярной биологии, для создания диагностических тест-систем, обеспечивающих высокую чувствительность и достоверность обнаружения специфических РНК и ДНК.

Диссертационная работа Ахметзяновой Лианы Ульфатовны представляет собой научно-квалификационную работу, которая полностью соответствует критериям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней» утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 24 сентября 2025 года диссертационный совет 24.1.218.01 принял решение присудить Ахметзяновой Лиане Ульфатовне учёную степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 4 доктора наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 21 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 15, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета 24.1.218.01, д.б.н., профессор, член- корреспондент РАО	 Хуснутдинова Эльза Камилевна
Заместитель председателя диссертационного совета 24.1.218.01, д.б.н., доцент	 /Карунас Александра Станислововна
Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.218.01, д.б.н., доцент	 /Корытина Гульназ Фаритовна
	«24» сентября 2025 года