ОТЗЫВ

научного руководителя Решетникова Василия Владимировича,
на диссертационную работу Куныка Дмитрия Александровича «Исследование роли мутаций неструктурных белков альфавируса и включения ингибиторов врожденного иммунитета на эффективность экспрессии целевых генов и реактогенность самоамплифицирующейся РНК»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология

Диссертационная работа Дмитрия Александровича Куныка посвящена актуальной и быстроразвивающейся области молекулярной биологии – созданию и оптимизации платформы самоамплифицирующейся РНК (саРНК) для профилактических терапевтических целей. Эта тема приобрела особую значимость после пандемии COVID-19, во время которой препараты на основе нереплицирующейся мРНК продемонстрировали как свой высокий потенциал, так и ряд ограничений в использовании, которые связанны с коротким временем биосинтеза целевого белка. Платформа на основе саРНК призвана решить эти проблемы, однако для ее применения требуется оптимизация. Наличие этапа внутриклеточной репликации, в которую вовлечены неструктурные белки вирусного происхождения, делает препараты на основе саРНК потенциально более реактогенными. Основной задачей исследования было преодоление этих барьеров за счет оптимизации отдельных компонентов платформы на основе саРНК.

Несомненной ценностью диссертационной работы является то, что автор не просто протестировал отдельные модификации саРНК, а провел комплексное исследование компонентов, влияющих на эффективность препаратов на основе саРНК, которые включают инженерию репликативного аппарата, модулирование активации системы врожденного иммунитета и варьирование регуляторных регионов саРНК. Такой комплексный подход, позволил получить оригинальные данные и расширяет фундаментальные представления о биогенезе саРНК и ее взаимодействии с клеточными компонентами и имеет прямую практическую ценность для разработки новых поколений эффективных и безопасных РНК-препаратов на основе самоамплифицирующихся РНК.

Автор впервые показал, что мутация в последовательности саРНК, приводящая к аминокислотной замене S773P, повышает уровень биосинтеза целевого белка за счет повышения уровня субгеномной РНК, которое сопровождается селективной активация противовирусных генов RIGI, MDA5 и IFIT1. Негативные эффекты вызванные повышением реактогенности, связанные с аминокислотной заменой S773P удалось устранить за счет включения последовательности ингибиторов систем врожденного иммунного ответа в кассету саРНК. Было показано, что ингибитор врожденного иммунного ответа p4a MERS-CoV, закодированный в последовательности саРНК, приводит к повышению продукции целевого белка и снижению активации транскрипции генов врожденного иммунного ответа MDA5 и IFIT1,

нивелируя тем самым недостатки использования мутации, приводящей к аминокислотной замене S773P. Еще одним важным результатом является то, что варьирование регуляторных последовательностей саРНК также позволило повысить эффективность саРНК-платформы. Синтетическая последовательность 5'-НТО, закодированная после субгеномного промотора, приводит к повышению уровня целевого белка и не влияет на соотношение форм саРНК.

В процессе выполнения работы Дмитрий Александрович освоил и успешно применил весь спектр современных молекулярно-биологических методов: от конструирования плазмидных векторов и получения РНК-препаратов in vitro до проведения сложных клеточных экспериментов методов статистического анализа. Дмитрий Александрович не только освоил существующие методики, но и активно участвовал в их оптимизации, что позволило повысить воспроизводимость и достоверность полученных результатов.

За время работы над диссертацией Дмитрий Александрович проявил себя как исследователь, способный самостоятельно ставить задачи, находить нестандартные решения и доводить эксперимент до завершения. В процессе работы над диссертацией Дмитрий Александрович проявил высокий уровень квалификации и продемонстрировал личные качества, необходимые для успешного исследователя: настойчивость, критическое мышление, ответственность и способность к работе в команде. Он всегда был готов обсуждать сложности, возникающие в ходе реализации работы, аргументированно отстаивал свою точку зрения и в то же время был открыт для конструктивной критики и новых идей. Следует отметить значительный прогресс в становлении Дмитрия Александровича как самостоятельного исследователя за период обучения в аспирантуре и проведения диссертационного исследования.

Работа Дмитрия Александровича представляет собой законченное, логически выстроенное и методологически обоснованное исследование, выполненное на высоком научном и техническом уровне. Проведенное исследование направлено на решение актуальной задачи, имеющей фундаментальную и практическую ценность. По своей актуальности, научной новизне, объему и глубине проведенных исследований, а также практической значимости полученных результатов, диссертация полностью соответствует критериям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Научный центр трансляционной медицины АНОО ВО «Научно-технологический университет «Сириус».

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
Решетников Василий
Владимирович _____ / Решетников В.В.

подпись заверяю

Руководитель группы
по работе с НПР
АНОО ВО «Университет «Сириус»

05.11.2026

Косуля И.С.