

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального

государственного бюджетного

учреждения «Государственный научный

центр «Институт иммунологии»

Федерального медико-биологического

агентства, д.м.н., проф., академик РАН

М.Р. Хаитов

« 10 » 07 2026 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения
«Государственный научный центр «Институт иммунологии»

Федерального медико-биологического агентства

о диссертационной работе Чернова П.В.

«Оптимизация подходов к дизайну малых интерферирующих РНК для
иммунорегуляции онкологической патологии на модели *in vitro*»
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности «3.2.7. Иммунология»

Диссертация «Оптимизация подходов к дизайну малых интерферирующих РНК для иммунорегуляции онкологической патологии на модели *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7. Иммунология» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России).

Соискатель Чернов Пётр Владимирович, 11.10.1998 года рождения, гражданство Российская Федерация, в 2022 году с отличием окончил специалитет Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, по специальности «31.05.01 Лечебное дело». С 2022 года обучается в очной аспирантуре по специальности «3.2.7. Иммунология» в ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. В период подготовки диссертации работал в должности младшего научного сотрудника в лаборатории биотехнологии, биоэкономики и вычислительной иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Научный руководитель – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук Кофиади Илья Андреевич, заведующий отделом генетики и регуляции иммунного ответа ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Слушали:

1. Выступление Чернова П.В. об основных результатах диссертационной работы.
2. Выступление рецензента д. фарм. н., профессора Смирнова В.В.
3. Выступление рецензента д. б. н. Шиловского И.П.

По результатам рассмотрения диссертации принято следующее

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Актуальность исследования

Онкологические заболевания остаются одной из ведущих причин смертности в мире, несмотря на значительный прогресс в области

диагностики и лечения. Существенную роль в прогрессии опухолевого процесса играют иммуноопосредованные механизмы, обеспечивающие уклонение опухолевых клеток от иммунного надзора и формирование иммуносупрессивного микроокружения. Поиск и разработка новых подходов к таргетной регуляции экспрессии генов, вовлеченных в данные процессы, является актуальной задачей современной молекулярной иммунологии и медицины.

Одним из перспективных механизмов направленного воздействия на экспрессию генов является РНК-интерференция. Применение малых интерферирующих РНК позволяет селективно подавлять экспрессию целевых генов на посттранскрипционном уровне и рассматривается как основа для создания новых терапевтических стратегий в иммунологии и онкологии. Особый интерес представляет применение интерферирующих РНК для регуляции экспрессии генов, ассоциированных с уклонением опухолей от иммунной системы: гена *CD47*, реализующего сигнал «don't eat me» через взаимодействие с рецептором SIRP α макрофагов, и гена *ITGB1*, кодирующего $\beta 1$ -субъединицу интегринов, вовлеченных в формирование иммуносупрессивного микроокружения опухоли.

В контексте моделирования подавления иммунологически значимых мишеней *CD47* и *ITGB1* выбор системы НЕК293Т с плазмидным люциферазным репортером является обоснованным для первичной оценки интерферирующей активности миРНК. Такая репортерная модель позволяет количественно оценить подавление целевых последовательностей без влияния вариабельности эндогенной экспрессии и дополнительных регуляторных механизмов опухолевых клеток. Высокая эффективность трансфекции НЕК293Т и чувствительность люциферазного анализа обеспечивают воспроизводимые условия для сравнения немодифицированных и химически модифицированных миРНК. В связи с

этим такая модель является рациональным выбором для высокопроизводительного скрининга в рамках валидации используемых алгоритмов дизайна и ранжирования миРНК применительно к выбранным иммунологически значимым мишеням *CD47* и *ITGB1*.

Несмотря на наличие разработанных алгоритмов дизайна интерферирующих РНК, их практическое применение сопряжено с рядом ограничений: существующие подходы формируют большие библиотеки потенциально активных молекул, требующих трудоемкой валидации. Рациональные подходы к химической модификации миРНК с учетом влияния на термодинамические характеристики дуплексов и функциональную активность остаются недостаточно разработанными. Таким образом, разработка комплексных подходов, объединяющих дизайн *in silico*, термодинамическую оценку и рациональную химическую модификацию миРНК, является актуальной задачей молекулярной иммунологии.

Соответствие темы диссертации паспорту научной специальности

Тема диссертации полностью соответствует специальности «3.2.7. Иммунология» (№ 3 – изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты. № 5 – изучение патогенеза иммуноопосредованных (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни) и других заболеваний. № 7 – разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии. Исследование эффективности и безопасности этих воздействий.).

Степень разработанности темы исследования

Механизмы действия малых интерферирующих РНК охарактеризованы в многочисленных экспериментальных и обзорных исследованиях. Созданы программные средства, позволяющие автоматизировать процесс проектирования миРНК и формировать большие библиотеки кандидатных последовательностей. Вместе с тем применение существующих алгоритмов приводит к генерации значительных массивов молекул, требующих последующей ресурсоемкой валидации. Остается недостаточно изученной взаимосвязь между локальными энергетическими характеристиками дуплексов, распределением термодинамической асимметрии между цепями и эффективностью подавления экспрессии целевых генов. Отсутствуют унифицированные подходы к рациональной химической модификации, обеспечивающие прецизионное управление степенью нокдауна. Разработка методов *in silico*-оценки и химической модификации миРНК с управляемой биологической активностью представляет собой актуальную и недостаточно разработанную научную задачу.

Цель исследования

Разработка функционально активных молекул для прецизионной регуляции экспрессии генов-мишеней, обеспечивающих уклонение опухолевых клеток от иммунного надзора – *CD47* и *ITGB1* – на модели *in vitro* посредством рационального дизайна *in silico*, термодинамической оценки и направленной химической модификации малых интерферирующих РНК.

Задачи исследования:

1. Разработать комплексный алгоритм *in silico*-дизайна и отбора миРНК на основе метода энергетической сигнатуры дуплексов миРНК, обеспечивающего учет индивидуального вклада характеристик нуклеотидной последовательности, термодинамических и структурных свойств целевых участков при прогнозировании функциональной активности. Сформировать с его применением библиотеку миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1*, участвующих в уклонении злокачественных опухолей от иммунного надзора.
2. Осуществить отбор и валидацию *in vitro* кандидатных миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1* человека с использованием разработанных подходов *in silico*, включая оценку цитотоксического эффекта синтезированных молекул на клеточной модели.
3. Разработать подходы к химической модификации последовательностей наиболее эффективных миРНК с использованием 2'-F- и 2'-O-метильных производных рибозы, обеспечивающие прецизионное управление энергетическим профилем дуплекса и регуляцию степени подавления экспрессии иммунорегуляторных генов-мишеней, выполнить их химический синтез, очистку и физико-химическую идентификацию.
4. Исследовать интерферирующую активность модифицированных миРНК в клеточной модели и проанализировать влияние различных схем химической модификации на функциональную активность, обосновав возможность прецизионного управления степенью подавления экспрессии генов *CD47* и *ITGB1*.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработан комплексный алгоритм *in silico*-дизайна и отбора миРНК, основанный на методе энергетической сигнатуры дуплексов, обеспечивающий двукратное повышение эффективности отбора миРНК, которые обеспечивают подавление экспрессию генов-мишеней более чем на 99%.
2. Позиционно-специфическая химическая модификация с использованием 2'-F- и 2'-O-метильных производных рибозы позволяет обеспечить устойчивость миРНК к действию нуклеаз и прецизионно изменять эффективность РНК-интерференции без нарушения комплементарности к целевому участку мРНК, в том числе для иммунологически значимых мишеней *CD47* и *ITGB1*.
3. Функционально активные химически модифицированные миРНК эффективно подавляют экспрессию иммунорегуляторных генов *CD47* и *ITGB1* при отсутствии выраженного цитотоксического эффекта, что обосновывает дальнейшее исследование их вклада в восстановление противоопухолевого иммунного ответа, а также проведение доклинических испытаний данных миРНК в качестве кандидатных средств для терапии онкологических заболеваний.

Связь темы диссертации с планом научно-исследовательских работ ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Диссертационная работа «Оптимизация подходов к дизайну малых интерферирующих РНК для иммунорегуляции онкологической патологии на модели *in vitro*» выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ, проводимых ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Диссертационная работа была проведена в рамках научно-исследовательской работы по теме: «Подавление экспрессии генов, ассоциированных с накоплением липопротеинов низкой плотности при помощи механизма интерференции РНК» (шифр «Липопротеин-24»).

Тема диссертации утверждена на заседании секции № 1 Ученого совета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, протокол № 1 от 15.01.2026 г.

Основные результаты диссертационной работы

В рамках проведенного исследования впервые разработан и обоснован метод энергетической сигнатуры дуплексов малых интерферирующих РНК, основанный на количественном анализе распределения термодинамической асимметрии по длине цепей дуплекса. Применение данного метода при отборе миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1*, способствующих уклонению опухолевых клеток от иммунитета, позволило повысить точность ранжирования кандидатных молекул и сократить объем валидации: все 12 отобранных дуплексов продемонстрировали высокую интерферирующую активность *in vitro*, что принципиально значимо для ускорения разработки кандидатных молекул для последующих иммунологических исследований.

Разработан комплексный алгоритм дизайна и ранжирования миРНК *in silico*, интегрирующий характеристики последовательности, термодинамические и структурные критерии оценки и метод энергетической сигнатуры. С применением данного алгоритма получены и охарактеризованы функционально активные немодифицированные и химически модифицированные миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1* человека, обеспечивающих уклонение клеток гепатоцеллюлярной

карциномы от иммунного надзора, валидированные в релевантной клеточной модели.

Впервые разработаны три оригинальных подхода к химической модификации миРНК с использованием 2'-F- и 2'-О-метильных производных рибозы, обеспечивающих прецизионное изменение энергетического профиля дуплекса без нарушения комплементарности целевому участку мРНК. Экспериментально доказана возможность управляемой регуляции степени подавления экспрессии иммунорегуляторных генов *CD47* и *ITGB1*: Метод 1 (усиление энергетических градиентов в антисмысловой цепи) максимизирует эффективность нокдауна; Метод 2 (сохранение амплитуды градиентов с дополнительной структурированностью) стабилизирует биологическую активность; Метод 3 (снижение амплитуды градиентов) обеспечивает частичное подавление экспрессии при сохранении специфичности.

Выполнен химический синтез немодифицированных и химически модифицированных миРНК классическим твердофазным фосфорамидитным методом. Структурная идентичность и чистота синтезированных продуктов подтверждены масс-спектрометрией MALDI-ToF и хроматографической очисткой. Разработан и апробирован альтернативный протокол кэпирования с использованием пропионового ангидрида, соответствующий действующим нормативным требованиям. Оценка цитотоксичности методом МТТ-теста показала отсутствие значимого токсического эффекта синтезированных миРНК на исследованных клеточных линиях, что подтверждает биологическую безопасность разработанных молекул.

Достоверность результатов диссертационной работы

Достоверность представленных результатов определяется четко сформулированными целью и задачами, планом исследования, достаточным для статистического анализа количеством наблюдений, использованием статистических методов исследования, адекватных поставленным задачам. Приведенные в диссертации данные получены с использованием современного оборудования, прошедшего своевременную поверку. Все эксперименты выполнялись в биологических и технических повторях; статистическая обработка проводилась с применением параметрических и непараметрических критериев, адекватных характеру распределения данных. Установлено, что результаты диссертационной работы являются достоверными.

Научная новизна работы

Научная новизна исследования состоит в разработке и экспериментальном обосновании оригинального подхода к предсказуемому дизайну миРНК, основанного на учете не только последовательностных и структурных характеристик дуплекса, но и локального распределения термодинамической асимметрии между его цепями. Предложенный метод энергетической сигнатуры позволяет рассматривать энергетический профиль дуплекса как самостоятельный параметр, влияющий на выбор направляющей цепи миРНК, ее загрузку в RISC-комплекс и последующую интерферирующую активность молекулы.

В работе продемонстрировано, что позиционно-специфическая химическая модификация миРНК может использоваться не только как способ повышения устойчивости к нуклеазам, но и как инструмент направленного изменения функциональной активности молекулы. Установлено, что рациональное размещение 2'-F- и 2'-O-метильных модификаций позволяет изменять локальный энергетический профиль дуплекса и тем самым регулировать степень подавления экспрессии иммунорегуляторных генов-мишеней без изменения нуклеотидной последовательности.

На примере иммунологически значимых генов-мишеней *CD47* и *ITGB1* обоснована возможность перехода от эмпирического подбора миРНК к проектированию молекул с прогнозируемой и дозируемой биологической активностью. Полученные результаты уточняют представления о роли химико-модификационных параметров дуплекса в регуляции РНК-интерференции и расширяют методологическую основу разработки олигонуклеотидных соединений для изучения механизмов противоопухолевого иммунного ответа.

Теоретическая значимость работы

Предложенный метод энергетической сигнатуры дуплексов миРНК углубляет фундаментальные представления о молекулярных детерминантах эффективности РНК-интерференции, раскрывая роль локального распределения термодинамической асимметрии в механизмах загрузки направляющей цепи в RISC-комплекс. Применительно к иммунологически значимым мишеням – генам *CD47* и *ITGB1* – данный подход демонстрирует принципиальную возможность предсказания функциональной активности молекул на этапе вычислительного анализа. Разработанные подходы к

химической модификации расширяют теоретические представления о взаимосвязи между локальными энергетическими характеристиками дуплекса и биологической активностью молекулы. Экспериментально обоснованная возможность прецизионного управления степенью нокдауна формирует новую концептуальную основу для создания миРНК с заданным иммунологическим эффектом – не бинарным нокдауном, а дозированной модуляцией активности молекул, обеспечивающих уклонение опухоли от иммунитета.

Научно-практическая значимость работы

Полученные функционально активные химически модифицированные миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1* представляют собой кандидатные молекулы, готовые к изучению в исследованиях механизмов уклонения опухолевых клеток от иммунного надзора. С учетом способности данных миРНК подавлять экспрессию иммунорегуляторных генов при отсутствии выраженного цитотоксического эффекта они могут рассматриваться как перспективные объекты для последующих доклинических исследований в области противоопухолевой иммунотерапии. Разработанный комплексный алгоритм дизайна и ранжирования миРНК *in silico*, включающий метод энергетической сигнатуры, может быть применен при проектировании миРНК к различным генам-мишеням, включая гены, вовлеченные в иммунорегуляцию и механизмы уклонения опухолевых клеток от иммунного надзора. Разработанные схемы химической модификации имеют самостоятельную практическую ценность как инструмент дозированного подавления экспрессии иммунорегуляторных генов, открывая перспективу тонкой настройки иммунного ответа без полного выключения физиологических функций мишени. Разработанный программный сценарий для подбора,

оценки и модификации миРНК представляет собой готовый к использованию программный модуль для научно-исследовательских лабораторий, а также применим в образовательном процессе при подготовке специалистов в области молекулярной иммунологии.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенное исследование формирует прочную методологическую основу для нескольких взаимосвязанных направлений дальнейшей работы.

Наиболее приоритетным направлением является валидация биологической активности отобранных кандидатных молекул – дуплексов I-1 (против *ITGB1*) и C1 (против *CD47*) – на моделях гепатоцеллюлярной карциномы *in vivo*. Такие исследования позволят оценить фармакодинамику и фармакокинетику разработанных миРНК в условиях целостного организма, изучить их влияние на взаимодействие опухолевых клеток с компонентами противоопухолевого иммунного ответа, а также определить терапевтическое окно и возможные токсические эффекты при системном введении.

Разработанный метод был апробирован на миРНК, однако его принципы применимы и к другим классам терапевтических олигонуклеотидов – антисмысловым олигонуклеотидам (АСО), малым активирующим РНК (saRNA), а также к молекулам, используемым в системах редактирования генома на основе CRISPR. Валидация метода на этих платформах позволит существенно расширить область его практического применения и создать унифицированный инструментарий рационального дизайна олигонуклеотидных агентов.

В рамках разработанной концепции управления энергетическим профилем дуплекса перспективно исследование модификаций, не рассмотренных в настоящей работе: фосфоротиоатного остова (PS), усиливающего устойчивость к нуклеазам; закрытых нуклеиновых кислот

(LNA), существенно повышающих термодинамическую стабильность дуплекса; а также комбинированных схем модификации, сочетающих несколько типов замещений в одной молекуле. Систематическое изучение этих подходов в контексте метода энергетической сигнатуры позволит расширить инструментарий тонкой настройки биологической активности и сформировать более полную структурно-функциональную карту пространства модифицированных миРНК.

Для продвижения кандидатных молекул к стадии доклинических исследований необходимо проведение транскриптомного анализа (RNA-seq) с целью всестороннего изучения нецелевых эффектов отобранных миРНК на глобальном уровне экспрессии генов. Это позволит выявить потенциальные мишени нецелевого сайленсинга, обусловленные частичной комплементарностью, оценить активацию интерферонового ответа и других иммуностимуляторных механизмов, а также подтвердить безопасность молекул перед переходом к исследованиям *in vivo*.

Применение GalNAc-конъюгатов открывает перспективу направленной доставки разработанных миРНК в гепатоциты через асиалогликопротеиновые рецепторы, что особенно актуально с учетом гепатоцеллюлярного происхождения целевых опухолей. Дальнейшие исследования в данном направлении должны включать сравнительную оценку эффективности различных конъюгатов и систем доставки – липидных наночастиц, полимерных носителей, антительных конъюгатов – применительно к разработанным терапевтическим агентам.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертации опубликовано 4 научных статьи в рецензируемых изданиях, включая статьи в журналах, входящих в перечень

рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и доктора наук.

Основные положения и выводы диссертации отражены в опубликованных работах в полном объеме.

Список статей, опубликованных по теме диссертации:

1. Approach to Design of Potent RNA Interference-Based Preparations Against Hepatocellular Carcinoma-Related Genes / **P. V. Chernov**, V. N. Ivanov, N. A. Dmitriev [et al.]. – Text : electronic // International Journal of Molecular Sciences. – 2026. – Vol. 27. – № 2. – P. 603. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/27/2/603> (date accessed: 25.05.2026).
2. Refined Design and Liquid-Phase Assembly of GalNAc-siRNA Conjugates: Comparative Efficiency Validation in PCSK9 Targeting / N. A. Dmitriev, **P. V. Chernov**, I. S. Gongadze [et al.]. – Text : electronic // Molecules. – 2026. – Vol. 31. – № 3. – P. 476. – URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/31/3/476> (date accessed: 25.05.2026).
3. Разработка и валидация алгоритмов поиска, оценки и модификации миРНК, применимых для терапии патологий иммунной системы, на примере гена АРОВ / **П. В. Чернов**, Н. А. Дмитриев, А. Е. Гусев [и др.]. – Текст: непосредственный // Иммунология. – 2025. – Т. 46. – № 4. – С. 483-497. – URL: https://www.immunologiya-journal.ru/ru/jarticles_immunology/504.html?SSr=07E909041FE3B (дата обращения: 25.05.2026).
4. Single cell RNA sequencing: modern approaches and achievements / A. E. Gusev, **P. V. Chernov**, N. A. Dmitriev, I. A. Kofiadi. – Text : electronic // RUDN Journal of Medicine. – 2025. – Vol. 29. – № 4. – P. 421-435. –

URL: <https://journals.rudn.ru/medicine/article/view/47645> (date accessed: 25.05.2026).

Материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены на конгрессах и конференциях:

1. The 19th IUIS International Congress of Immunology (IUIS 2025) (Вена, Австрия, 17–22 августа 2025 г.)
2. Международный конгресс по молекулярной иммунологии и аллергологии (ИМАС 25) (Москва, Россия, 4–5 декабря 2025 г.)
3. Школа по аллергологии и иммунологии им. Академика Р.М. Хаитова (Москва, Россия, 5–6 марта 2026 г.)

Ученый совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработана оригинальная научная идея о возможности прецизионного управления функциональной активностью миРНК посредством химической модификации, направленно изменяющей локальный термодинамический профиль дуплекса без изменения нуклеотидной последовательности, что обеспечивает управляемое снижение экспрессии целевых генов и расширяет возможности направленной регуляции молекулярных механизмов иммунного ответа;
- предложена оригинальная гипотеза о возможности применения разработанных алгоритмов для получения и химической модификации функционально активных миРНК против мРНК иммунорегуляторных генов с предсказуемым уровнем активности;
- доказано, что позиционно-специфическое введение 2'-F- и 2'-O-метильных модификаций в миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1* повышает устойчивость дуплексов к нуклеазной деградации при сохранении ингибирующей активности, что обосновывает их дальнейшее использование в экспериментальных моделях регуляции противоопухолевого иммунного ответа;
- введено понятие «прецизионное управление нокдауном», отражающее сформулированный и экспериментально обоснованный

в работе принцип дозированной регуляции экспрессии иммунорегуляторных генов за счет рационального выбора схемы химической модификации миРНК с заданным энергетическим профилем.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказано, что учет локального распределения термодинамической асимметрии вдоль миРНК-дуплекса на этапе *in silico*-дизайна позволяет повысить точность прогнозирования функциональной активности миРНК и уточняет представления о молекулярных факторах, определяющих преимущественную загрузку антисмысловой цепи в RISC-комплекс;
- применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс методов молекулярной иммунологии, химии олигонуклеотидов и клеточной биологии, обеспечивший возможность направленного дизайна, синтеза и функциональной оценки миРНК, в том числе анализа специфичности подавления генов, вовлеченных в молекулярные механизмы противоопухолевого иммунного ответа;
- изложены принципы применения метода энергетической сигнатуры для формирования приоритетных панелей кандидатных миРНК против иммунорегуляторных мишеней, позволяющие использовать локальный энергетический профиль дуплекса как самостоятельный критерий прогнозирования функциональной активности миРНК;
- раскрыта взаимосвязь между характером химической модификации миРНК, изменением локального энергетического профиля дуплекса и степенью нокдауна иммунорегуляторных генов, что представляет собой новый концептуальный уровень понимания структурно-функциональных основ РНК-интерференции;
- изучены особенности функциональной активности немодифицированных и химически модифицированных миРНК в клеточной модели и показана возможность дозированного воздействия на молекулярные механизмы уклонения опухолевых клеток от иммунного ответа;
- проведена модернизация методов дизайна миРНК с заданным уровнем биологической активности, основанных на учете последовательностных, термодинамических и химико-модификационных параметров дуплекса, что расширяет представления о возможностях направленного регулирования РНК-

интерференции применительно к иммунорегуляторным мишеням в онкоиммунологии.

Значение полученных результатов для практики подтверждается тем, что:

- разработан комплексный алгоритм дизайна и ранжирования миРНК *in silico*, готовый к использованию в качестве инструмента при создании терапевтических олигонуклеотидов против иммунорегуляторных мишеней;
- определены ключевые факторы, определяющие эффективность отбора миРНК на этапе вычислительного анализа, и предложены рациональные подходы к их применению для повышения точности прогноза биологической активности кандидатных молекул;
- создан методологический подход к тонкой настройке степени нокдауна иммунорегуляторных генов посредством трех оригинальных схем химической модификации без изменения нуклеотидной последовательности миРНК;
- представлены предложения по дальнейшему совершенствованию методологической платформы разработки миРНК как универсального подхода к проектированию молекул с заданной функциональной активностью, с возможностью последующей адаптации к широкому кругу генов-мишеней, включая гены, вовлеченные в регуляцию иммунного ответа.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- результаты работы получены на сертифицированном оборудовании и с использованием методов, адекватных поставленным задачам молекулярной иммунологии; показана воспроизводимость результатов исследования в повторных экспериментах;
- теория построена на известных, проверяемых фактах и согласуется с общепринятыми представлениями о молекулярных механизмах РНК-интерференции, роли термодинамических характеристик дуплекса в эффективности RISC-загрузки и значении посттранскрипционной регуляции генов в иммунном ответе;
- идея базируется на обобщении передового опыта автора и других исследователей по тематике дизайна и химической модификации

малых интерферирующих РНК, применимых для регуляции экспрессии иммунологически значимых генов;

- использовано сравнение авторских данных с данными отечественных и зарубежных исследований по рассматриваемой тематике, включая работы, посвященные молекулярным механизмам РНК-интерференции и регуляции генов, вовлеченных в противоопухолевый иммунный ответ;
- использованы современные методы сбора и обработки исходной информации, а также статистические методы исследования; объем проведенных исследований достаточен для выработки обоснованных заключений о функциональной активности миРНК в отношении иммунорегуляторных мишеней *CD47* и *ITGB1*.

Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации:

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельной постановке задач и планировании исследования; разработке алгоритмов дизайна и ранжирования миРНК *in silico*, включая метод энергетической сигнатуры; разработке и реализации программных сценариев для биоинформатического анализа; проектировании схем химической модификации миРНК; разработке дизайна и планировании экспериментов *in vitro* по оценке интерферирующей активности и цитотоксичности; проведении статистического анализа данных и интерпретации полученных результатов; подготовке основных публикаций по теме исследования.

Соответствие диссертации предъявляемым требованиям и рекомендация к защите

Диссертация Чернова П.В. «Оптимизация подходов к дизайну малых интерферирующих РНК для иммунорегуляции онкологической патологии на модели *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата медицинских

наук по специальности «3.2.7. Иммунология» охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что поддерживается наличием соответствующего методологически обоснованного плана научного исследования, непротиворечивой методологической платформы, основной идейной линии, концептуальности и взаимосвязанности выводов.

Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста и содержит 23 рисунка и 15 таблиц. Диссертация оформлена в традиционном стиле и включает в себя следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Словарь терминов», «Список литературы» и «Приложения». Библиография включает 122 источника, в том числе 9 отечественных и 113 зарубежных. Работа содержит 5 приложений.

Диссертационная работа соответствует специальности «3.2.7. Иммунология», по которой она рекомендуется к защите.

Исходя из вышеперечисленного, постановили:

Диссертационная работа Чернова П.В. «Оптимизация подходов к дизайну малых интерферирующих РНК для иммунорегуляции онкологической патологии на модели *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «3.2.7. Иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных научных задач, имеющих значение для иммунологии: разработана и экспериментально обоснована методологическая платформа предсказуемого дизайна, оценки и химической модификации миРНК для направленной регуляции экспрессии иммунологически значимых генов; в

работе создан комплексный алгоритм *in silico*-дизайна и ранжирования миРНК, а также впервые предложен метод энергетической сигнатуры дуплексов миРНК, позволяющий учитывать локальное распределение термодинамической асимметрии при прогнозировании выбора направляющей цепи миРНК, ее загрузки в RISC-комплекс и интерферирующей активности молекулы; доказано, что несистемное внесение химических модификаций может приводить к непредсказуемому изменению активности миРНК, тогда как разработанные схемы позиционно-специфической 2'-F- и 2'-O-метильной модификации позволяют направленно изменять локальный термодинамический профиль дуплекса и управлять степенью нокдауна без изменения нуклеотидной последовательности; с применением оригинального метода отбора получена панель химически модифицированных миРНК против иммунорегуляторных генов-мишеней *CD47* и *ITGB1*, обеспечивающая в условиях *in vitro* высокоэффективное подавление экспрессии целевых мРНК при отсутствии выраженного цитотоксического эффекта, что обосновывает дальнейшее изучение полученных молекул и применение разработанной платформы в иммунологических исследованиях, включая последующие доклинические исследования их потенциала в качестве кандидатных средств противоопухолевой терапии.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 в действующей редакции) и может быть представлена к защите в диссертационном совете.

Заключение принято на заседании секции № 1 Ученого совета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России «14» мая 2026 года. Присутствовало на заседании 11 членов секции, в том числе 6 докторов

