

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени
доктора биологических наук Храмцова Юрия Викторовича
на тему: «Оптимизация строения модульных молекулярных
конструкций, используемых в качестве инструмента для направленного
воздействия на выбранную внутриклеточную мишень»
по специальности 1.5.2. Биофизика**

Диссертационная работа Ю.В. Храмцова является актуальной по нескольким причинам. Научная актуальность состоит в том, что в работе наиболее полно разработан подход получения эффективных систем направленной доставки в клетки генетического материала и антителоподобных молекул. Этот подход отличается новизной и является настоящим научным прорывом, открывающим принципиально новые возможности в научных исследованиях в области биологии. Но, пожалуй, еще большая актуальность может состоять в перспективах реализации данного подхода в медицинских приложениях, где можно говорить о разработке основ для создания новых таргетных препаратов против онкологических и вирусных заболеваний, а также заболеваний, связанных с окислительным стрессом. В зависимости от задачи автор предлагает способы, позволяющие либо синтезировать нужный белок в целевых клетках, либо, напротив, ингибировать или даже деградировать практически любой выбранный внутриклеточный белок-мишень. Перспективность и актуальность такого подхода сложно переоценить.

Диссертация изложена на 282 страницах текста, имеет 86 рисунков и 10 таблиц, включает введение, обзор литературы, описание методов исследования, результаты работы, их обсуждение, выводы и список цитируемой литературы, включающий 422 наименования.

В представляемой работе Ю.В. Храмцова изложены результаты многолетних комплексных исследований, посвященных созданию эффективных систем транспорта генетического материала и антителоподобных молекул в клетку. В ней представлен обширный экспериментальный материал по исследованию строения и свойств этих систем на молекулярном уровне, изучено их распределение в культурах клеток и в организмах экспериментальных животных.

Работа, построенная по традиционной схеме, начинается с раздела «Введение», в котором подробно обоснованы исходные предпосылки для представляемого исследования, дается его общая характеристика, обоснованы новизна, актуальность, цели и задачи.

В разделе «Обзор литературы» достаточно подробно описаны особенности транспортных систем, позволяющие использовать их для независимой от типа клеток доставки генетического материала или специфической доставки других биологически активных веществ, таких как антителоподобные молекулы. Во втором случае специфичность достигается за счет взаимодействия с рецепторами, экспрессия которых увеличена при различных онкологических заболеваниях. Приводится детальное описание рецептора эпидермального фактора роста, для взаимодействия с которым и были созданы представленные в работе автора транспортные конструкции. Так как основное внимание в работе уделялось стадии выхода конструкций из эндосом, то она разбиралась в представленном обзоре наиболее подробно. В частности указаны предложенные в литературе механизмы этого выхода для транспортных конструкций разного строения, такие как эффект протонной губки, выход из эндосом путем дестабилизации мембран и выход из эндосом липидных наночастиц или бактериальных токсинов. Учитывая, что в работе автора довольно много внимания уделяется моделированию процесса транспорта молекулярных конструкций, представленный обзор завершает описание компартментных моделей на примере поступления антител в опухоль.

Для достижения цели и решения поставленных в работе задач автор использовал большое количество различных методов, описание которых представлено в разделе «Материалы и методы». Они включают в себя набор биофизических и физико-химических методов для исследования свойств получаемых транспортных конструкций, химических и молекулярно-биологических методов их получения, методов работы с клетками и с лабораторными животными, включая методы конфокальной лазерной сканирующей микроскопии и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии.

Описание полученных результатов проиллюстрировано большим набором рисунков и таблиц и включает в себя 8 отдельных подразделов. Прежде всего, представлены довольно интересные результаты по оптимизации системы доставки генетического материала в клетки. Для компактизации и доставки нуклеиновых кислот используются довольно часто применяемые для этих целей полимеры на основе имеющего высокий положительный заряд полиэтиленimina. Чтобы оптимизировать строение полученных полиплексов, в работе применен комплексный подход, в котором изучается зависимость эффективности трансфекции клеток от состава полиплексов, их строения, а также их распаковки на различных этапах процесса транспорта в ядро клетки. Это позволило, с одной стороны, определить оптимальные состав и размер полиплексов для получения максимальной эффективности трансфекции, а, с другой стороны, установить ключевые этапы процесса транспорта и распаковки полиплексов, влияющие на эту эффективность. В результате автор не просто случайным образом варьировал состав полиплексов, а целенаправленно его изменял, чтобы максимально увеличить трансфекцию. Особенно это проявилось для клеточной линии, для которой изначально эффективность трансфекции была всего несколько процентов, а автору удалось повысить ее вплоть до 100 %. Безусловно данные результаты найдут в будущем широкое практическое применение при генотерапии различных клеточных патологий. Весьма

любопытными кажутся данные, касающиеся другой системы доставки молекул – модульных нанотранспортеров (МНТ). Предложенные автором способы улучшения их эффективности основаны на исследованиях их трехмерного строения методами атомно-силовой микроскопии, просвечивающей электронной микроскопии и малоуглового рентгеновского рассеяния МНТ, а также на изучении влияния отдельных модулей МНТ на функции друг друга. Подробно изучены МНТ, способные связываться с Keap1 и N-белком вируса SARS-CoV-2 за счет монободы в своем составе. Для них автором было показано, что взаимодействие с нужным внутриклеточным белком можно улучшить путем отщепления монободы от МНТ эндосомной протеазой катепсином В. Взаимодействие МНТ с Keap1 можно использовать не только для активации Nrf2-системы клеток, но и для доставки биологически активных веществ, например, фотосенсибилизаторов, к поверхности митохондрий. В результате этой доставки их фотоцитотоксичность увеличивалась практически на порядок, что можно применить при лечении опухолевых заболеваний. Другой оптимизацией строения МНТ в представленной диссертационной работе является включение в состав МНТ аминокислотной последовательности, привлекающей убиквитинлигазу Keap1. На примере МНТ, нацеленного на N-белок коронавируса, было показано, что это приводило к деградации этого белка и сильному подавлению репликации вируса. В завершении раздела полученных результатов автор изучает способы улучшения накопления МНТ в опухолях лабораторных мышей. Также как в известной литературе, он приходит к выводу о том, что для этого нужно увеличивать время циркуляции молекулы в крови. Это в диссертации осуществляется за счет присоединения полиэтиленгликоля с возможностью его отщепления опухолеспецифичными протеазами, заменой транслокационного домена дифтерийного токсина на пептид GALA3 и введением аминокислотной последовательности, способной взаимодействовать с альбумином. В результате достигнуто значительное увеличение времени циркуляции МНТ в

крови, а значит и лучшее накопление его в опухоли. Автором диссертационной работы продемонстрирован весь спектр воздействия на внутриклеточные белковые мишени. А именно, полиплексы оптимизированного строения позволяют осуществлять синтез в клетке нужного белка, МНТ позволяют доставлять антителоподобную молекулу в клетку и взаимодействовать с выбранным белком, а сайт в составе МНТ, привлекающий убиквитинлигазу, позволяет деградировать данный белок. В работе уже предложены новые и эффективные препараты для генотерапии, для лечения онкологических и вирусных (на примере коронавируса) заболеваний, а также заболеваний, связанных с окислительным стрессом.

В разделе «Обсуждение результатов» анализируется совокупность полученных данных и формулируются общие принципы изменения строения молекулярных конструкций для повышения эффективности их направленного внутриклеточного транспорта. На конкретных примерах обсуждается, как эти принципы можно реализовать при доставке генетического материала и антителоподобных молекул в клетки. Проведенный анализ полученных данных приводит к заключению, что разработаны перспективные средства доставки биологически активных веществ в заданные ткань организма и компартмент клетки.

Подводя общий итог результатам исследования, представленного в диссертационной работе Ю.В. Храмцова, можно отметить, что автором были получены новые научные результаты, важные, как для развития медицинской физики, так и для других разделов науки. Эти результаты должны в будущем привести к созданию более эффективных методов терапии различных заболеваний, обладающих меньшими побочными эффектами.

Диссертационная работа Ю.В. Храмцова представляет собой цельное, оригинальное научное исследование и является законченным научным трудом, в котором отражен большой массив данных, полученных автором за многие годы работы. Практически все эти результаты опубликованы в рецензируемых журналах, а также доложены на международных и

всероссийских конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Работа выполнена на высоком уровне, о чем свидетельствует публикация полученных результатов в высокорейтинговых журналах. Предложенные автором и его коллегами улучшения эффективности доставки генетического материала нашли отражение в двух полученных патентах. Представленные в диссертации результаты достоверны и новы, положения, выносимые на защиту, научные выводы и рекомендации хорошо обоснованы, а вся работа заслуживает высокой оценки.

Высоко оценивая экспериментальные и теоретические достоинства работы, следует, тем не менее, указать на некоторые ее недостатки. Так, автор предложил два варианта МНТ, способных деградировать N-белок вируса SARS-CoV-2, которые проникали в клетки неспецифически и благодаря связыванию с рецептором эпидермального фактора роста. Однако прямого сравнения этих двух МНТ на линиях клеток, отличающихся по числу данных рецепторов, не приводится. Данное сравнение позволило бы разделить области применения полученных МНТ. В работе также есть ошибки пунктуации и опечатки.

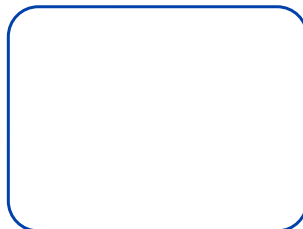
Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Храмцов Юрий Викторович заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Официальный оппонент:

член-корреспондент РАН, доктор биологических наук,
профессор, главный научный сотрудник, заведующий
лабораторией клеточных основ развития злокачественных заболеваний
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт
молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН

Прасолов Владимир Сергеевич



24.06.2026

Контактные данные:

Телефон: +7(916) 146-41-67; e-mail: prassolov45@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация:

03.00.03. Молекулярная биология

Адрес места работы:

119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта Российской академии наук,
лаборатория клеточных основ развития злокачественных заболеваний.

Тел.: +7 (499)135-11-60, +7 (499)135-23-11; e-mail: isinfo@eimb.ru

Подпись Прасолова Владимира Сергеевича заверяю:

