

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

Исследованию возможности воздействовать на внутриклеточные белки, отвечающие за патологические процессы, уделяется огромное внимание во многих лабораториях мира. В настоящее время, подавляющее большинство используемых для этого веществ представляют собой низкомолекулярные химические соединения, способные самостоятельно проникать в клетку. Однако такие химические средства неспецифичны по отношению к типу клеток и часто недостаточно специфичны по отношению к белку-мишени. Это приводит к возникновению нежелательных побочных эффектов. Круг белков-мишеней, к которым удастся подобрать высокоспецифичные низкомолекулярные вещества, очень ограничен. Поэтому поиск более универсальных, высокоспецифичных к белку-мишени молекул, таких как антитела или антителомиметики является актуальной задачей. Но для проникновения их в клетку требуется молекулярная система доставки. Основным требованием к этой системе является эффективное преодоление с её помощью различных барьеров как на клеточном, так и на организменном уровне.

Представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук диссертация Ю.В. Храмцова представляет собой важный и интересный шаг в направлении повышения эффективности этих систем доставки путем варьирования их строения. На примере антителоподобных молекул автор показал, что можно воздействовать практически на любую внутриклеточную

белковую молекулу, как просто взаимодействуя с ней, так и вызывая ее деградацию. Взяв за основу эффективную технологию модульных нанотранспортеров, автор применил ее для доставки антителоподобных молекул, дополнительно усовершенствовал эту технологию и смог повысить ее эффективность как *in vitro*, так и *in vivo*. Полученные новые результаты предопределяют возможность создания в ближайшем будущем эффективных терапевтических средств, нацеленных на лечение широкого круга социально значимых заболеваний.

Диссертация Ю.В. Храмцова изложена на 282 страницах, иллюстрирована 86 рисунками, включает также 10 таблиц и список цитированной литературы из 422 наименований. Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, результатов, главы «Материалы и методы», обсуждения и выводов.

Раздел «Введение» обосновывает исходные предпосылки исследования, его новизну, актуальность, дает общую характеристику исследования, формулирует цели и задачи.

Раздел «Обзор литературы» вводит в проблематику исследования и включает в себя описание специфической и неспецифической доставки локально-действующих веществ в заданный компартмент клеток-мишеней. Рассмотрены ключевые стадии этого процесса доставки, особенно стадии выхода молекул из эндосом. Подробно описаны механизмы этого выхода для различных систем доставки. В конце раздела на примере модели поступления антител из кровотока в опухоль дается описание компартментных моделей транспорта молекул в клетку или ткань.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает примененные методы. Они включают в себя целый ряд биофизических, молекулярно-биологических, физико-химических и аналитических методов для создания модульных молекулярных конструкций, исследования их строения, функциональной активности отдельных модулей, взаимодействия с внутриклеточной мишенью в живых клетках и биораспределения в



организме мышей. В частности, активно применялись методы конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, флуоресценции резонансного переноса энергии по Фёрстеру, флуоресцентной микроскопии с временным разрешением, однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, атомно-силовой микроскопии, просвечивающей электронной микроскопии, малоуглового рентгеновского рассеяния, клеточного анализа теплового сдвига, иммуноблоттинга, термофореза и многие другие. Большой набор разнообразных современных методов подчеркивает высокий уровень проведенных исследований.

Раздел «Результаты» подробно описывает многолетние исследования автора и его коллег, направленные на создание оптимальных транспортных конструкций, обеспечивающих наилучшую эффективность доставки биологически активных молекул в клетки. Он разделен на 8 подразделов. Вначале описывается оптимизация полиплексов – комплексов положительно заряженных блок-сополимеров на основе полиэтиленимина и нуклеиновых кислот. С использованием конфокальной микроскопии и флуоресцентного резонансного переноса энергии по Фёрстеру, а также предложенных автором компартментных моделей транспорта полиплексов убедительно показано, что варьированием состава полиплексов и их концентрации можно существенно повысить эффективность трансфекции клеток доставляемым генетическим материалом вплоть до 100%. Эти результаты в перспективе можно использовать для успешной генотерапии различных заболеваний. Далее автор переходит к оптимизации строения другой перспективной системы доставки биологически активных молекул – модульных нанотранспортеров (МНТ). Было изучено трехмерное строение МНТ и исследовано влияние отдельных модулей МНТ на функции друг друга. В представленной диссертационной работе МНТ используются преимущественно для доставки антителоподобных молекул к выбранному цитозольному белку-мишени. Прежде всего, это МНТ, нацеленные на активацию Nrf2-системы клетки, отвечающей за антиокислительные и

регенеративные процессы. В диссертационной работе показано, что эти МНТ обладают защитным действием против веществ, приводящих к окислительному стрессу, как на клетках, так и на уровне организма. Учитывая большое разнообразие патологий, связанных с окислительным стрессом, данные МНТ, несомненно, представляют значительный интерес. Автором показано, что введением сайта отщепления доставляемой молекулы от МНТ в эндосомах можно больше чем на порядок повысить ее сродство к выбранному белку-мишени. В частности, МНТ с данной оптимизацией существенно лучше защищал клетки от действия перекиси водорода, чем МНТ без возможности отщепления. Идея об отщеплении доставляемой молекулы в эндосомах использовалась в диссертационной работе и для других МНТ, нацеленных на N-белок вируса SARS-CoV-2. Продемонстрировано, что эти МНТ могут взаимодействовать с N-белком в живых клетках, что приводит к разрушению образуемых данным белком биоконденсатов. Было показано, что включение в состав МНТ специальной аминокислотной последовательности, привлекающей убиквитинлигазу, приводило к деградации N-белка в клетках-мишенях. Предложенный автором МНТ, способный проникать в клетки разных типов и вызывать в них деградацию N-белка, обладал выраженным противовирусным действием. Таким образом, в работе были заложены принципы, позволяющие в перспективе создавать эффективные препараты против различных вирусных инфекций. В конце раздела описывается оптимизация строения МНТ, позволяющая сильно увеличить его время циркуляции в крови, что положительно сказывается на его накоплении в целевом органе или ткани. Полученные автором результаты могут быть использованы для создания препаратов для лечения опухолевых заболеваний, включая стадии образования метастаз.

В разделе «Обсуждение результатов» проведен обобщающий анализ полученных данных. Сформулированы основные принципы оптимизации строения модульных молекулярных конструкций, позволяющих им



эффективно преодолевать ряд барьеров как на организменном, так и на клеточном уровне и оказывать наибольшее воздействие на выбранную внутриклеточную мишень. Особенно следует выделить результаты, демонстрирующие, что введение в конструкцию МНТ сайта отщепления доставляемой молекулы в эндосомах, добавление последовательности, привлекающей убиквитинлигазу, присоединение к МНТ полиэтиленгликоля с возможностью его отщепления в опухоли, замена эндосомолитического модуля МНТ на пептид GALA3 и добавление альбумин-связывающего домена в МНТ, существенно положительно влияют на функциональность создаваемых агентов.

В целом, работа хорошо структурирована, цель и задачи соответствуют вызовам современной науки, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, что подтверждается широким спектром использованных аналитических и экспериментальных методик

Резюмируя сказанное можно сделать вывод, что автором были получены принципиально новые научные результаты, которые делают возможным получать эффективные системы доставки биологически активных веществ, в частности, с использованием антителоподобных молекул. Учитывая, что последние можно подобрать к практически любому белковому антигену, открываются многообещающие перспективы как для создания препаратов для лечения широкого круга различных патологий, так и для фундаментальных исследований белок-белковых взаимодействий в клетке.

Представленная диссертационная работа является законченным исследованием, в ней отражен большой массив данных, полученных автором за двадцать лет работы. Полученные результаты являются новыми, их достоверность подкреплена соответствующим статистическим анализом. Публикация их в международных журналах показывает, что они прошли проверку научным экспертным сообществом и работа выполнена на высоком уровне. Все перечисленные в диссертации статьи опубликованы в журналах,

реферируемых Web of Sciences, и нашли отклик в достаточно большом количестве научных публикаций. Выводы и основные положения, выносимые на защиту, хорошо обоснованы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Практически все результаты, включенные в диссертационную работу, опубликованы в рецензируемых журналах, а также доложены на международных и всероссийских конференциях.

Диссертационная работа Ю.В. Храмцова заслуживает самой высокой оценки. Представленные результаты являются новыми, достоверными и приоритетными. Высоко оценивая экспериментальные и теоретические достоинства работы, следует, тем не менее, указать на ее некоторые недостатки. К работе имеется ряд вопросов и замечаний:

1. На основании каких соображений выбирались антителоподобные молекулы для МНТ?
2. Все ли внутриклеточные белки можно деградировать предложенным автором диссертационной работы способом?
3. Кроме деградации путем полиубиквитинилирования в литературе известны и другие способы деградации белков, о чем следовало бы упомянуть в диссертации.
4. В работе есть ряд опечаток и ошибок.

Указанные замечания носят непринципиальный характер и совершенно 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

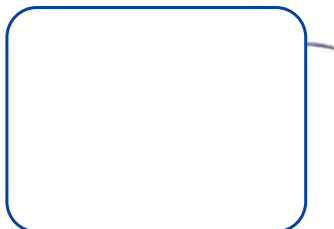
ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

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

Официальный оппонент:

академик РАН, доктор биологических наук,  
профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки ГНЦ  
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.  
Овчинникова РАН

Деев Сергей Михайлович



29.05.2026

Контактные данные:

Тел.: +7(905)755-39-30; e-mail: biomem@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена  
диссертация:

03.00.03. Молекулярная биология

Адрес места работы:

117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к.1.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Государственный научный центр Институт биоорганической химии им.  
академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии  
наук, лаборатория молекулярной иммунологии

Подпись Сергея Михайловича Деева заверяю:

В.А. Олейников ДФМН

