

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук
Антиповой Ольги Михайловны
на тему: «Аптамеры к поверхностным антигенам CD133 и EGFR
для тераностики глиом»
по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия**

Актуальность избранной темы

Злокачественные опухоли головного мозга представляют серьезную проблему для здравоохранения. Рост заболеваемости глиобластомой, наиболее агрессивной формой глиом, за последние 20 лет увеличился в двое. Современные методы исследования продемонстрировали гетерогенность клеток в опухоли, что существенно усложняет применение универсальных терапевтических подходов, и диктует необходимость внедрения персонализированных методов лечения, учитывающих представленность адресных маркеров в популяции опухолевых клеток. Узнающими адрес молекулами могут быть не только антитела, но и короткие нуклеиновые кислоты с уникальными третичными структурами – аптамеры. Аптамеры находят широкое применение в фундаментальных исследованиях молекулярных механизмов взаимодействия нуклеиновых кислот с различными лигандами, их начинают использовать для детекции различных маркеров в тестовых системах и *in vivo*. Совмещение в одной молекуле узнающей функции и терапевтического воздействия делает их мощными инструментами для тераностики опухолей.

Диссертационная работа Антиповой Ольги Михайловны посвящена анализу возможностей аптамеров для тераностики глиом на примере маркеров EGFR и CD133. Выявленные возможности новых РНК- и ДНК-апатамеров для тераностики глиом позволяют оценить исследование как высоко актуальное.

Научная новизна исследования

В исследовании Антиповой О.М. разработаны подходы для стандартного описания свойств аптамеров на основании сравнительного исследования различных аптамеров к различным мишеням. По построению исследования и полученным результатам можно заключить, что работа Ольги Михайловны впервые системно рассматривает аптамеры различной химической природы к двум различным клеточным мишеням. Продемонстрировано, что аптамеры являются надежным инструментом для детекции опухолевых биомаркеров, в том числе в составе сложной системы, клетки. Впервые проведенное в работе сравнение аффинностей аптамеров, полученных из разных селекций показало, что аффинности аптамеров различной химической природы - фторированных по пиримидинам РНК- и ДНК-аптамеров, сопоставимы. Более того, технологичные оригинальные короткие ДНК-аптамеры GR20 и Gol1 способны эффективно связывать рекомбинантный белок EGFR с K_D 26 нМ и 17 нМ, соответственно. В дальнейшем, автор на страницах своей диссертации переходит от бесклеточной системы к экспериментам на клетках и убедительно доказывает, что короткие аптамеры GR20 и Gol1 эффективно узнают клетки с представленными мишенями EGFR и CD133. Для аптамера GR20 впервые на качественном и количественном уровне показана сборка конструкции с комплементарным олигонуклеотидом, что является, безусловно, ярким результатом работы.

Практическая ценность результатов, полученных в работе

Антиповой О.М. отобраны и оптимизированы на основании рационального дизайна уникальные последовательности ДНК аптамеров, позволяющие узнавать поверхностные антигены на клетках с высоким уровнем чувствительности. Такие конструкции могут быть использованы в диагностических системах для быстрого скрининга маркеров в опухолях пациентов для выбора определенной таргетной терапии. Показано, что

конструкция аптамера GR20 доставляет доксорубицин в клетки с мишенью, и поэтому может рассматриваться для внедрения в практику как вариант таргетной терапии.

Структура и общая характеристика диссертационной работы

Диссертация О.М. Антиповой построена по стандартной схеме, и содержит все необходимые разделы: развернутое введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, описание результатов исследования и их обсуждение, заключение, выводы и список цитированной литературы. Диссертация содержит 48 рисунков и 9 таблиц. Список литературы включает 183 источника. Поскольку работа системно рассматривает аптамеры различной химической природы к двум различным мишеням: рецептору эпидермального фактора роста EGFR и трансмембранному белку CD133, тематика обзора литературы “Аптамеры для тераностики глиобластомы” направлена погружение в область объектов исследования.

В работе сформулировано пять положений, соответствующих цели исследования. Все положения отражают основные результаты, полученные в работе. Положения полностью обоснованы.

Современные методы, используемые в работе, как химические, так и биологические, описаны достаточно подробно. Обсуждение результатов объединено в одну главу с результатами, что позволяет более полно погрузиться в материал исследования. Разнообразие методов, использованных в работе, а также уровень описания научных результатов позволяет не сомневаться в достоверности предложенных автором выводов.

Выводы диссертации четко сформулированы и полностью подкреплены полученными результатами. Автореферат отражает все основные результаты исследования, представленные в диссертации. В разделе

Заключение сформулированы в том числе рекомендации к последующей разработке таргет-специфичных антипролиферативных реагентов и оценке эффективности их цитостатического или цитотоксического действия.

Хочется отметить цельность работы – от выбора аптомеров, оптимизации их последовательностей, расчета вторичных структур, к исследованию взаимодействия с изолированными мишенями с оценкой аффинности, и переходу к анализу взаимодействия с клетками-мишенями, в том числе в виде комплексов с противоопухолевым агентом доксорубицином.

Работа интересная, с перспективами практического применения в клинической диагностике, написана в динамичном стиле, а качество полученных в работе результатов характеризует Антипову Ольгу Михайловну как сложившегося специалиста в области биоорганической химии.

Замечания

1. В разделе, посвященном дизайну аптамера GR20 указано, что в предсказанной структуре аптамера содержится 3+5+4 Уотсон-Криковских пар, но нет обсуждения почему финальная структура содержит 2+5+4 Уотсон-Криковских пар, согласно Рис. 16.

2. На мой взгляд, не достаточно подробно описана система с использованием комплементарного олигонуклеотида. Предлагаемый метод анализа достаточно элегантен, и полностью отвечает задачам исследования. Однако, было бы лучше схематически изобразить детектируемые комплексы. Кроме того, автор пишет, что ранее подход с комплементарной гибридизацией олигонуклеотида был применен для введения метки в короткий анти-EGFR РНК-аптамер, что не совсем верно терминологически. В действительности, подход не обеспечивает введение

метки в олигонуклеотид, а обеспечивает визуализацию аптамера в составе комплекса.

3. При описании исследования 2'-F-Pyr-PHK-аптамера методом интерферометрии пропущено описание того, который из компонентов системы был биотинилирован.

4. На Рис. 18 ось "Y" (A-B) лучше было бы представить в единообразном масштабе для лучшей наглядности различий.

5. На стр 78 и 79 присутствует полный повтор абзаца, посвященный тому, что короткие ДНК-аптамеры оказались хорошими молекулярными узнающими элементами.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа Антиповой О.М. представляет собой актуальное научное исследование, выполнена на высоком методическом уровне. Исследование четко спланировано и логически выстроено, вносит значительный вклад в решение вопросов биоорганической химии, связанных с созданием и использованием аффинных биоузнающих лигандов на основе нуклеиновых кислот. Работа написана хорошим научным языком, тщательно оформлена.

Диссертация по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.9. Биоорганическая химия (по химическим 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 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Антипова Ольга Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия (по химическим наукам).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт
химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского
отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)

Коваль Ольга Александровна

5 ноября 2025 г.