

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 терапии глиом»
по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия (химические науки)

Актуальность исследования

Аптамеры представляют собой класс аффинных и специфичных к мишени олигонуклеотидов, перспективных для решения многих задач современной биомедицины. Аптамеры получают путем направленного отбора из комбинаторных библиотек. На сегодняшний день разработано большое количество разнообразных методов селекции ДНК- и РНК-аптамеров к всевозможным мишениям для различных целей. В настоящее время получены как рибонуклеотидные, так и дезоксирибонуклеотидные аптамеры ко многим мишениям: белкам, пептидам, нуклеиновым кислотам, полисахаридам, малым органическим молекулам (например, АТФ), метаболитам, вирусным частицам и целым клеткам.

Первичная селекция редко приводит к эффективным аптамерам: требуется дальнейшее детальное изучение свойств самих аптамеров, взаимодействие их с мишенью и структурная подгонка.

По некоторым функциональным характеристикам аптамеры аналогичны моноклональным антителам. Аптамеры активно используются как в исследованиях, так и в биомедицине.

Особый интерес вызывает получение аптамеров к белкам-биомаркерам различных заболеваний и создание на их основе новых диагностических и терапевтических препаратов. Для диагностики и мониторинга опухолей проводят поиск и изучение маркеров на поверхности опухолевых клеток. Несомненно, что для этого необходимы надежные и чувствительные методы детекции опухолевых биомаркеров, в том числе на клеточном уровне. Однако выбор доступных на сегодняшний день методов диагностики опухолевых

биомаркеров довольно ограничен. Одним из видов опухолей, для которых особенно остро стоит проблема разработки новых способов детекции онкомаркеров, является глиобластома.

Согласно классификации ВОЗ одним из основных онкомаркеров глиобластомы является рецептор эпидермального фактора роста (англ. EGFR). Это фактор агрессии опухоли, повышенное количество которого обеспечивает плохой прогноз течения заболевания. Второй маркер – это поверхностный антиген CD133, который характеризует клетки на ранней стадии дифференцировки, то есть клетки, которые делятся редко и на которые не действуют стандартные терапевтические воздействия, такие как радио- и химиотерапия.

Все это обуславливает высокую актуальность работы Антиповой О.М., направленной на разработку и изучение аптамеров, как молекулярных узнающих элементов, к важным опухолевым маркерам, характерным для глиобластомы. В рамках тераностики необходимо понимать возможности аптамеров как для детекции онкомаркеров, так и для доставки антипролиферативных соединений в клетки опухоли.

Структура работы.

Диссертационная работа Антиповой О.М. построена по традиционному образцу: она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы. Основная часть работы изложена на 186 страницах, содержит 48 рисунков и 9 таблиц, библиография включает 183 литературных источника.

В разделе «Введение» обоснована актуальность тематики работы, сформулированы цель и задачи работы, показаны новизна и значимость исследования. Задачи соответствуют общей цели работы. Положения, выносимые на защиту, отражают суть работы и адекватны основным выводам.

Обзор литературы посвящен известным данным об аптамерах к исследуемым двум опухолевым маркерам и применению аптамеров с акцентом на взаимодействие аптамеров с клетками. Обзор хорошо структурирован,

содержит заключение, резюмирующее основные тенденции и перспективы в области разработки аптамеров и применения их для аптараностики.

Глава «Экспериментальная часть» содержит подробное описание реагентов, материалов, приборов и методик экспериментов, проведенных в работе.

Глава «Результаты и обсуждение» состоит из разделов, описывающих результаты для аптамеров к двум структурно и функционально различным маркерам. Подразделы соответствуют последовательным этапам решения поставленных в работе задач.

Обоснованность положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

В первой части работы описано системное исследование набора аптамеров к EGFR. В том числе рассмотрены возможные модели вторичной структуры РНК- и ДНК-аптамеров, показано наличие структуры для оригинальных коротких аптамеров, определена аффинность набора аптамеров к рекомбинантному внеклеточному домену EGFR, исследовано взаимодействие анти-EGFR аптамеров со стандартными линейными клетками и клетками перевиваемых культур пациентов из Биобанка НМИЦ им. акад. Н.Н. Бурденко.

Вторая часть работы посвящена аптамерам к CD133 - трансмембранным белку, который не имеет структурированного внеклеточного домена, поэтому не получается в рекомбинантном виде и существует только в составе клеток. На клетках стандартных линий и клетках перевиваемых культур пациентов с различным относительным количеством маркера из Биобанка НМИЦ им. акад. Н.Н. Бурденко показано различие между целевым специфическим взаимодействием аптамеров и неспецифическим взаимодействием неаптамерных олигонуклеотидов.

Исследование взаимодействие набора аптамеров к двум разным мишениям и набора клеток с различным уровнем маркера позволило Антиповой О.М. выявить клетки со специфическим взаимодействием, что позволило выбрать

клеточную модель для изучения возможности аптамеров для тераностики глиобластомы.

Завершающим этапом работы стала демонстрация возможности использования аптамерной конструкции для доставки доксорубицина в клетки культуры опухоли пациента. Для этого был получен аптамер с дополнительным участком, который гибридизовался с комплементарным олигонуклеотидом. После чего в конструкцию был интеркалирован доксорубицин. В перспективе разработанная система может быть использована для скрининга узнавающей части аптамеров или для доставки различных терапевтических соединений.

В разделе «Заключение» подведены итоги работы и обозначены ее дальнейшие перспективы. Основные выводы работы обоснованы и не вызывают сомнения.

Принципиальная новизна работы заключается в том, что из двух наборов - аптамеров и клеток, Антиповой О.М. были выбраны и описаны эффективные модели для изучения тераностики глиобластомы.

Основное содержание работы полностью отражено в автореферате. Автореферат проиллюстрирован 19 рисунками и содержит 2 таблицы. По материалам работы опубликованы 5 статей.

Все основные результаты подтверждены современными физико-химическими методами. Методики экспериментов описаны в соответствующей главе диссертации. Выводы основаны на значительном экспериментальном материале.

Вместе с тем необходимо обратить внимание автора на ряд вопросов, не меняющих общего положительного отношения оппонента к работе:

1) Не раскрытым кажется вопрос о влиянии пробоподготовки образца клеточной суспензии для цитометрического анализа на аффинность и специфичность связывания изученных аптамеров, что важно в работе с клиническим материалом.

2) Разработана методика определения CD133 на поверхности клеток, и поведение аптамеров в интернализованных везикулах, усовершенствован протокол окрашивания, однако эта сторона исследования не имеет акцента в обсуждении результатов.

3) Представленные аптамеры могут значительно усовершенствовать существующие методы диагностики злокачественных новообразований головного мозга *in vivo*, что показано на рисунке А 19, где для комбинации приведены микрофотографии срезов опухоли ГБ мозга крысы. Проводились ли исследования аптамеров используемых в экспериментах представленных на рисунках А9-12, для окрашивания гистологических срезов?

4) Как характеризуют аптамеры CD133 гетерогенность популяции CD133+ клеток? В линиях пациентов обычно присутствуют популяции с различной представленностью CD133, можно ли сортировать такие клетки с помощью полученные аптамеров?

5) Текст диссертации несет ряд несущественных опечаток.

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, оно вносит значительный вклад в решение вопросов биоорганической химии, связанных с созданием и использованием аффинных и специфичных молекулярных узнающих элементов 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:
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
лаборатории мембранных биоэнергетических систем
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Государственный научный центр Российской Федерации
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова Российской академии наук

Антипова Надежда Викторовна

17.11.2025