

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Гапоновой Светланы Константиновны “Сиквенс-специфические олигонуклеотид-пептидные конъюгаты и N-(метаносульфонил)фосфорамидные аналоги антисмысловых олигонуклеотидов как ингибиторы онкогенных миРНК *in vitro* и *in vivo*”, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ. Диссертационная работа Гапоновой Светланы Константиновны посвящена детальному изучению биологической активности двух типов перспективных ингибиторов онкогенных микроРНК (миРНК). В последние два десятилетия в результате активного изучения функциональных свойств миРНК стало понятно, что наряду с регуляторной ролью эти РНК имеют большое значение в развитии широкого спектра патологий человека, включая онкологические заболевания. Поэтому возникла идея разработки соединений, обладающих свойством направленного ингибирования онкогенных миРНК в клетках человека. Получение таких соединений открыло бы блестящие перспективы для коррекции направленности действия отдельных клеточных миРНК с целью подавления их нежелательной активности, приводящей к злокачественному перерождению клеток. Очевидно, что высокотехнологичные препараты, разработанные на основе таких соединений, могли бы иметь широкое медицинское применение. Поэтому тема исследования Гапоновой С.К., лежащая в русле передовых исследований и разработок в научном сообществе, на мой взгляд, несомненно, является актуальной.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. В работе впервые разработаны олигонуклеотид-пептидные конъюгаты, осуществляющие сиквенс-специфическое расщепление онкогенной миРНК-мишени – миРНК-21, в каталитическом режиме и исследовано их действие на пролиферацию и инвазию опухолевых клеток, а также на рост опухолей у мышей. Впервые исследованы свойства нового типа миРНК-направленных антисмысловых олигонуклеотидов, содержащих N-(метансульфонил)фосфорамидную модификацию всех межнуклеотидных связей и продемонстрировано, что данные олигонуклеотиды способны индуцировать апоптоз опухолевых клеток и обеспечивать многократное снижение скорости роста опухоли у мышей, не оказывая при этом токсического эффекта на организм животных. Все результаты работы являются оригинальными и опубликованы автором в научных журналах высокого международного уровня. Таким образом, безусловно, в работе Гапоновой С.К. присутствует научная новизна.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ. В первую очередь практическая значимость диссертационной работы Гапоновой С.К. заключается в демонстрации перспективности использования N-(метансульфонил)фосфорамидных антисмысловых олигонуклеотидов и олигонуклеотид-пептидных конъюгатов направленных против миРНК-21 в качестве прототипов лекарственных препаратов для терапии онкологических заболеваний. Достижения работы расширяют понимание молекулярных основ клеточного действия данных олигонуклеотидов, что может быть использовано в дальнейшем при разработке подобных соединений другой направленности.

СТРУКТУРА И ОБЪЕМ ДИССЕРТАЦИИ. Диссертация Гапоновой С.К. написана по традиционной схеме и состоит из введения, обзора

литературы, экспериментальной части с описанием использованных материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 294 библиографических источника. Текст изложен на 170 страницах, иллюстрирован 33 рисунками, включает 13 таблиц и 1 приложение.

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНОГО СОДЕРЖАНИЯ ДИССЕРТАЦИИ. Обзор литературы посвящён описанию современного состояния научных знаний в области направленной регуляции активности опухоль-ассоциированных миРНК под действием различных вариантов олигонуклеотидных конструкций, и достижений в этом направлении. Обзор хорошо структурирован, содержит шесть основных разделов, в которых описаны биогенез мРНК, их роль при онкологических заболеваниях, стратегии, применяемые в регуляции активности миРНК с использованием нуклеиновых кислот, а также, собрана информация по разработке и применению препаратов на основе нуклеиновых кислот для терапии миРНК-ассоциированных онкологических заболеваний. Изложенный материал прекрасно иллюстрирован, информативен, и, в целом, даёт исчерпывающее представление по теме работы диссертации. Обзор легко читается и свидетельствует как о широком научном кругозоре автора, так и о том, что он и отлично разбирается в научном материале по исследуемой проблеме.

Глава «Экспериментальная часть» написана со всей необходимой тщательностью и позволяет при необходимости воспроизвести все эксперименты, выполненные автором. В известной мере эта глава указывает на уверенное владение автором широким спектром научных методов, его способность самостоятельно проводить сложные эксперименты и анализировать получаемые результаты.

В главе «Результаты и обсуждение» автор приводит непосредственно описание результатов своей экспериментальной работы и сделанных на основе полученных данных заключений. Глава, по сути, разбита на две большие части: часть, посвящённую разработке и исследованию миРНК-направленных олигонуклеотид-пептидных конъюгатов, и часть, связанную с работой с N-(метансульфонил)фосфорамидными производными олигонуклеотидов. На основе результатов, полученных в опытах *in vitro* в первой части работы, автором сформулированы основные принципы дизайна олигонуклеотидной части миРНК-направленных конъюгатов на основе пептида [(LeuArg)₂Gly]₂ и далее в опытах *in vivo* изучены характеристики миРНК-21-направленного подавления инвазивного потенциала клеток лимфосаркомы и меланомы мыши, а также роста опухоли у мышей. Результаты работы, изложенные во второй части, позволили автору сделать важные обобщения о гибридизационных свойствах N-(метансульфонил)фосфорамидных производных олигонуклеотидов и изучить их антипролиферативный эффект на раковых клетках и подавление роста карциномы человека у мышей. Приведенные в тексте диссертации экспериментальные данные имеют необходимые контроли, статистически обработаны и их достоверность не вызывает сомнений. Отдельно следует отметить внутреннюю логику построения работы и последовательность в достижении автором научных результатов, от изучения физико-химических характеристик новых соединений и их рибонуклеазной активности, до применения исследуемых препаратов в опытах на мышах. Это, без сомнения, украшает работу. Единственное, что следовало бы добавить в раздел «Заключение», это личную оценку автора о предпочтительности применения олигонуклеотид-пептидных конъюгатов и N-(метаносульфони́л)фосфорамидных аналогов антисмысловых олигонуклеотидов в качестве перспективных терапевтических средств.

Выводы диссертации в краткой форме выражают умозаключения автора, сделанные на основе полученных данных, и соответствуют результатам работы.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО РАБОТЕ. Диссертационная работа Гапоновой С.К. выполнена на высочайшем научном уровне. В список работ по теме диссертации вошли 6 статей в престижных отечественных и международных научных журналах, включая такой высокорейтинговый журнал как *Proceedings of the National Academy of Sciences*, что свидетельствует о международном признании трудов автора научным сообществом. Тем не менее, хотелось бы высказать несколько замечаний по содержанию и оформлению работы. Так, на стр. 76 и далее для мотивов G-C, G-U и G-A принято общее обозначение G-X, хотя более правильным было бы использовать обозначение G-N, поскольку IUPAC рекомендует использовать букву N для обозначения любого, кроме G, нуклеотида. В опыте, результаты которого представлены на рис. 14, не хватает ещё одного контроля – расщепления миРНК-мишени в присутствии свободного неконъюгированного пептида, а если такой эксперимент был сделан ранее, то об этом следовало бы упомянуть в соответствующем разделе. Также в тексте присутствует некоторое количество опечаток и неудачных выражений (например, ”2’ОМетильных”, стр. 96; “анти-миграционное”, стр.102; “модификация 2’F-дезоксарабинонуклеиновыми основаниями”, стр. 105), которых, надо признать, совсем немного.

Отмеченные недостатки, конечно, не носят принципиального характера, не портят общего положительного впечатления от представленной научно-квалификационной работы и никоим образом не отражаются на её значимости и ценности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Всё вышеизложенное позволяет заключить, что диссертация Гапоновой Светланы Константиновны “Сиквенс-специфические олигонуклеотид-пептидные конъюгаты и N-(метаносульфонил)фосфорамидные аналоги антисмысловых олигонуклеотидов как ингибиторы онкогенных миРНК *in vitro* и *in vivo*”, представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук, является законченным исследованием, которое по своему содержанию, актуальности выбранной темы, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а её автор, Гапонова Светлана Константиновна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

Доктор химических наук, доцент
03.11.2020

Малыгин Алексей Аркадьевич

Ведущий научный сотрудник Лаборатории структуры и функции рибосом
Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского
отделения Российской Академии наук

г. Новосибирск, 630090, пр. академика Лаврентьева, д.8

Тел.: +7-(383)-363-51-39

E.mail: malygin@niboch.nsc.ru

Подпись Малыгина Алексея Аркадьевича удостоверяю

