

## ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Черникова Ивана Вячеславовича на тему “Влияние структуры липофильных конъюгатов малых интерферирующих РНК на их накопление в клетках и биологическую активность *in vitro* и *in vivo*”, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Явление РНК-интерференции после своего открытия расценивалось как чрезвычайно перспективный метод направленного влияния на экспрессию отдельных генов, поскольку введение искусственно синтезированных siRNA, являющихся индукторами РНК-интерференции, могло бы существенно облегчить лечение целого ряда заболеваний, связанного с нарушениями экспрессии определённого гена. Однако в дальнейшем обнаружилось серьёзные ограничения, препятствующие переходу препаратов siRNA из области экспериментальных исследований в сферу создания лекарственных препаратов. В первую очередь, это проблема низкой биодоступности препаратов siRNA на уровне целого организма, а не культур клеток. Существующие системы доставки siRNA в цитоплазму клетки либо являются достаточно токсичными для организма, либо обладают недостаточной эффективностью. Для разработки более эффективных средств доставки необходимы систематические исследования свойств биологических конъюгатов siRNA на различных моделях и с использованием различных модификаторов, вводимых в структуру siRNA. Поэтому тематика данной работы по изучению влияния остатков молекул природного происхождения на эффективность доставки конъюгатов siRNA в клетки-мишени и специфичность их воздействия является несомненно актуальной и важной.

Научная новизна данной работы определяется тем, что в ходе систематического исследования впервые показано, что при доставке без трансфецирующего агента на накопление и биологическую активность препарата может оказывать влияние конъюгация флуорофора. Для выбранной модифицированной siRNA исследована способность подавлять экспрессию гена-мишени и подобрана оптимальная стратегия её введения. Показано, что на выбранной модели происходит эффективное подавление экспрессии гена лекарственной устойчивости *MDR1*. Кроме того, данная работа имеет определённую практическую ценность, так как в ходе её был разработан прототип препарата для повышения эффективности лечения опухолей с множественной лекарственной устойчивостью.

Структура данной диссертационной работы является классической, она изложена на 162 страницах, содержит 38 рисунков и 7 таблиц. Она состоит из разделов Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение, Выводы и Список литературы. Список использованных сокращений весьма полон и занимает 5 страниц. Библиографический указатель цитированной литературы включает 277 источников. Автореферат диссертации точно и полно отражает содержание самой работы.

Обзор литературы написан ясно, обстоятельно, хорошим языком, снабжен достаточным количеством иллюстраций, состоит из семи основных разделов и заключения, исчерпывающе описывает современное состояние исследований в данной области, производит весьма приятное впечатление как своей полнотой, так и хорошей систематизацией большого объёма информации. Автор успешно осветил такие вопросы, как особенности РНК-интерференции, проблемы использования siRNA, способы их доставки в цитоплазму клеток, дал обширный обзор химических модификаций siRNA и биоконъюгатов на

их основе. Особенно стоит отметить хорошо организованные и высокоинформативные таблицы 1 (Влияние химических модификаций на свойства siРНК) и 2 (Биоконъюгаты siРНК).

Раздел «Материалы и методы» достаточно полно описывает широкий и разнообразный спектр использованных методов – от химических методов введения флуорофора до биологических - работы с культурами клеток, биологическими жидкостями и тканями, конфокальной и флуоресцентной микроскопии, ПЦР в реальном времени, а также статистической обработки данных.

Основным разделом диссертационной работы является «Результаты и обсуждение». Автором изучено влияние различных модификаций липофильных производных siRNA на их биологическую активность, стабильность и эффективность доставки в клетку. Исследовано влияние длины линкера, химической структуры липофильной части, наличия и отсутствия трансфецирующего агента, а также флуорофора. В экспериментах *in vivo* исследовано влияние способа введения препарата на его распределение у контрольных мышей и мышей с лекарственно-устойчивой опухолью KB-8-5. Показано статистически значимое подавление экспрессии гена-мишени *MDR-1* на уровне его продукта – Р-гликопротеина. Сделанные автором заключения и интерпретации результатов полностью соответствуют экспериментальным данным.

Диссертацию завершают 5 четко сформулированных выводов, которые полностью соответствуют поставленным задачам и основаны на фактических данных, полученных автором. По материалам диссертации опубликовано 7 научных статей в рецензируемых журналах, 5 из которых индексируются в международных базах Web of Science и/или Scopus. Однако стоит отметить, что список публикаций автора присутствует в автореферате, но отсутствует в тексте диссертации.

Результаты работы были представлены на 9 международных конференциях

Диссертационная работа Черникова Ивана Вячеславовича “Влияние структуры липофильных конъюгатов малых интерферирующих РНК на их накопление в клетках и биологическую активность *in vitro* и *in vivo*” является законченным самостоятельным научно-квалификационным исследованием, выполненном автором на высоком научном уровне и посвящённым изучению влияния различных модификаций структуры липофильных конъюгатов siRNA на их биологическую активность.

Таким образом, по актуальности темы, объёму, новизне полученных результатов и их научной и практической значимости представленная диссертация отвечает требованиям, установленным Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.03 «молекулярная биология» (биологические науки), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Диссертация оформлена согласно Приложениям № 5, 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Автор диссертации, Черников Иван Вячеславович, без сомнения, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 «молекулярная биология» (биологические науки).

Официальный оппонент,

к.б.н. по специальности 03.00.15 – генетика,

зав. сектором геномных исследований

ИЦиГ СО РАН,

пр. Лаврентьева 10, т.+7 (383) 363-49-63\*2211

genn@bionet.nsc.ru

Васильев Геннадий Владимирович

20 ноября 2019г.



Подпись Г.В. Васильева удостоверяю

Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН,

к.б.н.



Г.В. Орлова