

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Полины Александровны Котельниковой на тему: «Конструкции на основе наночастиц и рекомбинантных белков для онкотераностики», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология

Диссертационная работа П.А. Котельниковой посвящена созданию и использованию наночастиц и направляющих белков, избирательно взаимодействующих с молекулами-мишенями на поверхности опухолевых клеток. Подобные исследования позволяют специфически визуализировать опухоль и метастазы, могут привести к направленно действующим противоопухолевым веществам с различными механизмами действия, а также снизить нежелательную токсичность в отношении нормальных клеток. Соответственно, актуальность настоящей диссертационной работы не вызывает сомнения, учитывая, что онкология является второй по значимости причиной смертности в мире после сердечно-сосудистых заболеваний, а современное состояние медицины позволяет увеличить продолжительность и улучшить качество жизни пациентов, но используемые алгоритмы и лекарства часто не достаточно специфичны в отношении опухолевых клеток, что обуславливает спектр побочных эффектов, необходимость использования высоких доз и появление лекарственной устойчивости.

Диссертационная работа П.А. Котельниковой построена по традиционной схеме и включает в себя: введение, обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальную часть, заключение и список литературы, состоящий из 166 статей и обзоров, подавляющее большинство из которых опубликовано в последние 10-12 лет. Диссертационная работа изложена на 133 страницах и содержит 31 рисунок и 3 таблицы.

Литературный обзор весьма лаконичен, состоит из четырех глав и занимает 29 стр. Следует отметить его логичное построение, хорошее оформление и органическую связь с темой диссертационной работы. Используемая П.А. Котельниковой схема изложения последовательно подводит читателя к собственно диссертационному исследованию и позволяет оценить новизну проделанной автором работы. К очевидным достоинствам литературного обзора следует отнести то, что автор не только обсуждает известные данные, но и намечает перспективные направления исследований в данной области. Полагаю, что эту часть диссертационной работы, после некоторой переработки, можно было бы опубликовать в виде отдельной статьи.

Диссертационную работу П.А. Котельниковой отличает четкий и логически выстроенный вектор исследования, объектом которого служат HER2-позитивные клетки опухоли молочной железы. В работе были использованы линии клеток со сверхэкспрессией HER2, с нормальной экспрессией рецептора и HER2-отрицательные клетки, что позволило оценить избирательность взаимодействия наноконструкций (см. ниже) с клетками. В качестве инструмента исследования использованы три типа наночастиц: на основе сополимера молочной и гликолевых кислот (PLGA), магнитные наночастицы на основе магнетита, покрытые карбоксиметилдекстраном, и ПЭГирированные наночастицы серебра. Все три типа наночастиц обладали низкой цитотоксичностью и были конъюгированы с тремя направляющими белками: полноразмерным антителом трастузумабом (150 кДа), полипептидами дарпином (14 кДа) и аффибоди (8 кДа). Небольшой размер аффибоди позволил получить конъюгаты с наибольшей плотностью посадки.

Конкретные задачи дальнейших исследований определили природу веществ, которыми были нагружены полученные конъюгаты:

- (i) для детекции опухолевых клеток и локализации опухоли *in vivo* PLGA-наночастицы были нагружены нильским синим, или IR-780, а наночастицы серебра - флуоресцентной меткой DyLight650.
- (ii) для ингибирования роста опухолевых клеток П.А. Котельникова с успехом использовала как методы фототермической терапии (PLGA-наночастицы, нагруженные нильским синим и IR-780), так и фотодинамическую терапию (наночастицы серебра). Показана перспективность применения иммунотоксина DARP-LoPE в комбинации с PLGA-аффибоди, нагруженными доксорубицином. Такая комбинация почти в 1000 раз эффективнее подавляла рост опухолевых клеток по сравнению с иммунотоксином DARP-LoPE.
- (iii) для создания новых возможностей эффективной и быстрой отмены непродуктивной химиотерапии П.А. Котельникова осуществила специфическую сборку модуля барстар-барназа на поверхности клеток, используя наночастицы магнетита в качестве носителя. Таким образом, был успешно реализован новый способ модификации этих наночастиц без химической конъюгации (константа диссоциации комплекса барстар-барназа составляет $\sim 10^{-14}$ M), а созданная автором наноконструкция Магнетит-(Bs-C-Mms6)-(DARPin9.29-Bn) специфически связывалась с опухолевыми клетками гиперэкспрессирующими HER2.

Диссертационная работа П.А. Котельниковой представляет собой оригинальное исследование, выполненное на высоком уровне, в ходе которого автор освоила и успешно использовала широкий спектр методов современной биохимии, молекулярной биологии и физико-химического анализа. Эксперименты выполнены на самом высоком уровне, их объем впечатляет, результаты оригинальны и не вызывают сомнений.

В заключении диссертационной работы П.А. Котельникова суммирует и логически анализирует полученные результаты, формулирует

выводы, которые основываются на полученных экспериментальных данных, однозначно из них следуют и вполне соответствуют поставленным задачам и целям. Разработанные П.А. Котельниковой алгоритмы к созданию и использованию адресных биосовместимых наночастиц перспективны для создания новых методов и подходов для диагностики и лечения онкологических заболеваний. Научная значимость полученных результатов подтверждена девятью публикациями 2018-2024 гг. в высокорейтинговых международных и отечественных журналах.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. В то же время, при прочтении диссертации и автореферата возник ряд замечаний и пожеланий, обусловленных некоторыми стилистическими неточностями. Например, (i)- в названии и тексте разделов 3.3.3 и 3.3.4 диссертации (стр. 98-101) и на стр. 17-19 автореферата используется не совсем корректное сокращение «наночастицы Ag-PEG-HER2», которое не соответствует природе используемых автором конъюгатов наночастица-(направляющий белок/полипептид). При этом следует отметить, что из текста диссертации и автореферата однозначно следует о каких конъюгатах в действительности идет речь. (ii)- в списке работ автора, опубликованных по теме диссертации (автореферат, стр. 27), для статей №№ 1, 2, 4 и 5 приведены неполные ссылки – отсутствуют номера страниц или номер публикации.

Диссертационная работа Полины Александровны Котельниковой на тему: «Конструкции на основе наночастиц и рекомбинантных белков для онкотераностики», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология, представляет собой законченное научно-квалификационное исследование. Эта работа по своей актуальности, объему, научной новизне, степени достоверности результатов и выводов, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям,

предъявляемым к кандидатским диссертациям и критериям (в том числе п.9), установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. № 1539; 26.09.2022 г. № 1690; 26.01.2023 г. № 101), а ее автор, Полина Александровна Котельникова, безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

Официальный оппонент



Алексей Радиевич Хомутов

доктор химических наук (специальность 03.01.03 молекулярная биология)
ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных
основ действия физиологически активных соединений
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН).

«06» ноября 2024 г.

Контактные данные

Тел.: 8-499-1356065, e-mail: alexkhom@list.ru

Почтовый адрес: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32

Подпись

Хомутова А.Р., д.х.н., ведущего научного сотрудника
лаборатории молекулярных основ действия
физиологически активных соединений ИМБ РАН

Удостоверяю

Ученый секретарь ИМБ РАН

Коновалова Елизавета Владимировна, к.ф.-м.н.

