

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Фроловой Анастасии Юрьевны

**«Мультифункциональные гибридные структуры
для тераностики раковых заболеваний»**

на соискание ученой степени кандидата химических наук

по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия

Диссертационная работа Фроловой Анастасии Юрьевны посвящена разработке и изучению возможностей применения конструкций на основе пептидов семейства rHLIP и многофункциональных белков в качестве новых агентов для тераностики злокачественных новообразований.

Разработка новых лекарственных средств, обладающих избирательным действием на опухолевые клетки, является крайне актуальным направлением современной науки. Выбор мишеней для создания избирательно действующих противоопухолевых препаратов может быть основан на различиях между злокачественными и здоровыми клетками. Опухолевые клетки отличаются от нормальных клеток не только морфологическими особенностями, но и изменениями в метаболизме. Нарушение процессов пролиферации, регуляции и дифференцировки приводит к изменениям биохимических процессов опухолевых клеток и затрагивает все виды обмена: нуклеиновых кислот, белков, углеводов, липидов, ионов, витаминов. В связи с этим закономерно изменяются и физико-химические параметры опухолевых клеток и новообразования в целом.

Исследование А.Ю. Фроловой основано на феномене возникновения локальной гипоксии и внеклеточного ацидоза у солидных опухолей. Понижение рН на поверхности клеток может служить как маркером для обнаружения пораженных тканей, так и мишенью для разработки рН-чувствительных противоопухолевых агентов. Автором предложено использовать конструкции слияния белков, в том числе обладающими многофункциональными свойствами (флуоресцентными и фототоксичными), с rHLIP пептидами, которые при умеренно кислых значениях рН способны проникать в мембраны клеток. Такой подход позволит осуществлять направленную доставку к опухолевым клеткам терапевтических белков и оказывать противоопухолевый эффект *in situ*.

В результате работы А.Ю. Фроловой разработаны подходы для получения конструкций на основе белков и пептидов семейства rHLIP, способных к эффективному связыванию при понижении рН. В ходе исследований автором были обнаружены некоторые аспекты, возникающие при конструировании таких гибридных структур и влияющие на свойства двух активных составляющих конструкций – функциональной белковой молекулы и рН-чувствительных пептидов rHLIP. В частности Ю.А. Фроловой установлено, что использование комбинаций различных пептидов rHLIP и линкеров для соединения этих пептидов с молекулой белка в гибридных конструкциях влияет на эффективность связывания таких структур при понижении рН. Показано влияние последовательности пептидов rHLIP на фолдинг белковой составляющей гибридной конструкции.

На основе пептида ATRAM А.Ю. Фроловой был получен набор конъюгатов с различными модификациями низкомолекулярного красителя BODIPY и флуоресцентной метки sulfo-Cy5 в сочетании с белком mCherry. Исследование связывания полученных конструкций с клетками HeLa показало, что мечение гидрофобными низкомолекулярными соединениями может сдвигать pH-зависимый процесс встраивания конструкции в клеточную мембрану в сторону более физиологических значений pH.

В диссертационной работе показан потенциал применения pHILIP-технологии в сочетании с белковыми молекулами на примерах флуоресцентных белков, обладающих в том числе и фототоксичными свойствами, на моделях *in vivo* и *in vitro*. В частности, А.Ю. Фроловой была получена конструкция, сочетающая в себе мутантный вариант флавино-связывающего белка miniSOG (SOPP3) и пептид pHILIP. На клетках HeLa А.Ю. Фроловой показана зависимость эффективности связывания конструкции miniSOG-pHILIPwt от pH, продемонстрирована фототоксичность конструкции и ее способность генерировать АФК после связывания с клетками при пониженных pH.

На основании выявленных закономерностей автором были предложены новые стратегии для получения гибридных структур, способных к эффективному связыванию с опухолевыми клетками при понижении pH. Они основаны на выборе оптимального линкера, а также во введении в конструкцию второй молекулы белка с образованием структуры, в которой N- и C-конец пептида связан с белковой составляющей. Автором показано, что эффективность связывания конструкции, несущей на обоих концах пептида ATRAM белковые матрицы, с клетками HeLa была в 20 раз больше, чем эффективность связывания структур, несущих одну молекулу белка.

Диссертация А.Ю. Фроловой представляет собой законченное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Принципиальных недостатков в изложении автореферата не обнаружено. Автореферат не лишен незначительных орфографических опечаток, которые не осложняют восприятие. Однако данные неточности не умаляют вклад соискателя в результаты проведенного исследования.

Содержание диссертационной работы А.Ю. Фроловой представлено в 3 статьях в научных журналах, утвержденных в перечне ВАК, в 5 тезисах докладов международных конференций.

Объем и уровень выполненных исследований позволяет сделать заключение, что диссертационная работа Фроловой Анастасии Юрьевны «Мультифункциональные гибридные структуры для тераностики раковых заболеваний» отвечает всем требованиям, отраженным в пунктах 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (ред. от 25.01.2024)) и предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Фролова Анастасия Юрьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.9 – Биоорганическая химия.

Кандидат химических наук (03.01.03 – Молекулярная биология),
старший научный сотрудник
лаборатории химической регуляции биокатализа
Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук (ИМБ РАН)
Морозова Елена Андреевна

Почтовый адрес: 119991, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.
Тел. раб: +7(499)135-9858
Факс: +7(499)135-1405
Электронная почта: elmorozova@yahoo.com

Морозова Елена Андреевна




(подпись)

«21» ноября 2024 г.

Подпись Е.А. Морозовой заверяю:

Коновалова Е.В.

Ученый секретарь ИМБ РАН, к.ф.-м.н.



(подпись)