

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Спиридоновой Веры Алексеевны, доктора биологических наук, доцента, старшего научного сотрудника отдела хроматографического анализа, Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова на диссертационную работу Оглоблиной Анны Максимовны «Мультитаргетные эффекты G4-аптамеров и их противоопухолевая активность *in vitro*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

### Актуальность темы исследования

Диссертация А.М. Оглоблиной посвящена изучению особенностей функционирования G4-мотивов в геноме клетки, в частности, проведению анализа плеiotропности механизма действия G4-аптамеров, а также анализу избирательности цитотоксического действия G4-аптамеров на опухолевые клетки.

К настоящему времени в качестве потенциальных агентов противоопухолевой терапии уже разработан ряд G4-аптамеров, способных взаимодействовать с белками-мишенями. Наиболее перспективные G4-аптамеры протестированы в предклинических и клинических исследованиях на предмет эффективного ингибирования целевого белка и противоопухолевого действия. Использование G4-аптамеров в клинической практике обладает рядом потенциальных преимуществ – быстрота и низкая стоимость синтеза, высокая стабильность и низкая иммуногенность по сравнению с моноклиональными антителами.

Однако плеiotропность действия G4-аптамеров, обусловленную

наличием схожих структурных детерминант, присущих всем G-квадруплексам, до настоящего момента не изучали.

Таким образом, актуальность работы Оглоблиной Анны Максимовны не вызывает сомнения.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Объем исследования и качество проведения молекулярно-биологических экспериментов достаточны для решения задач, поставленных в работе. Полученные данные обработаны с использованием современных методов математической статистики. Выводы работы полностью соответствуют полученным результатам и хорошо согласуются с современными представлениями о структурных особенностях G-квадруплексов, формируемых гуанин-богатыми последовательностями, представленными в геноме человека.

### **Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций**

Демонстрация факта взаимодействия G4-аптамера не только с белком, для ингибирования которого он был разработан, но и с белками, обладающими сродством к структурам такого типа, подтверждает высокую теоретическую значимость представленной работы. Представленная работа позволяет углубить понимание о механизмах влияния G4-аптамеров на внутриклеточные биологические процессы и открывает потенциал использования G4-аптамеров как мультитаргетных противоопухолевых агентов.

Обнаружение мультитаргетного эффекта G4-аптамеров демонстрирует практическую значимость работы, так как способствует развитию направления разработки противоопухолевых препаратов, способных блокировать одновременно несколько сигнальных путей, направленных на активацию

пролиферации и ингибирование апоптоза. Данная стратегия разработки противоопухолевый препаратов рассматривается как очень перспективная, так как становится очевидным, что процесс развития и эволюции опухоли является многофакторным, и многоцелевое воздействие на опухолевые клетки должно быть более эффективным в плане ингибирования роста и прогрессии опухоли, то есть обеспечивать более сильный и продолжительный терапевтический эффект.

Достоверность полученных результатов обусловлена применением в исследовании корректных методов статистической обработки данных. В диссертации А.М. Оглоблиной представлены результаты, обладающие научной новизной, а именно, впервые показано существование в геноме целого ряда одинаковых квадруплекс-образующих мотивов, доказано плейотропное действие аптамеров, разработанных на основе квадруплекс-образующих последовательностей к определенным целевым белкам. К результатам, имеющим большое практическое значение можно отнести полученные А.М.Оглоблиной данные об избирательности цитотоксического действия изучаемых аптамеров на опухолевые клетки.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация построена по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты собственных экспериментов и их обсуждение, заключения и выводы. Работа изложена на 139 страницах, включает 14 таблиц, 28 рисунков и 253 ссылки на литературные источники, включая публикации последних лет, а также одного приложения.

Глава «Обзор литературы» состоит из 5 разделов, в которых подробно разобраны особенности структуры G-квадруплексов, их локализация в геноме и транскриптом, функционирование в клетке, G4-распознающие белки,

которые рассматриваются в качестве белков-мишеней при онкологических заболеваниях, а также приведено описание аптамеров, разработанных к целевым G4-распознающим белкам, в котором автор приводит современные исследования, касающиеся их клинической значимости. Обзор написан хорошим литературным языком, интересен и логически последователен.

Глава «Материалы и методы» содержит исчерпывающее изложение всех использованных методик. В работе использован большой арсенал современных молекулярно-биологических и физико-химических методов, в том числе: круговой дихроизм, трансдукция с использованием вирусных частиц, люциферазный анализ, определение интенсивности репликации, определение топоизомеразной активности, определение цитотоксичности.

Глава «Результаты исследования» включает несколько разделов. В первом разделе логично обосновывается стратегия исследования. Во втором разделе автор проводит анализ существующих подходов биоинформатического скрининга G4-мотивов в геноме человека с целью выбрать оптимальный метод в рамках представленного исследования. Следующий раздел посвящен биоинформатическому поиску наиболее распространенных G4-мотивов в геноме человека. Автором выявлено 10 наиболее распространенных G4-мотивов в геноме человека, каждый из которых предшествует целому ряду генов, что дает основания предположить наличие кластерной регуляции генов за счет модулирования состояния G4-мотивов в ядре клетки, кроме того, наиболее распространенный G4-мотив был использован в исследовании в качестве одного из потенциальных G4-аптамеров. В следующем разделе А.М. Оглоблина анализирует структуру выбранного пула G4-аптамеров методом кругового дихроизма и выделяет среди исследуемых G4-аптамеров подгруппы на основе их структуры (параллельные, антипараллельные, смешанные). Далее

автором описан эффект ингибирования транскрипционного фактора Stat3 G4-аптамерами, подавление активности топоизомеразы I, эффект подавления процесс синтеза ДНК de novo в клетках MCF-7, а также продемонстрированы взаимосвязи между структурой G4-аптамеров и их биологической активностью. В заключительном разделе данной главы описаны результаты эксперимента, продемонстрировавшего более сильный цитостатический эффект G4-аптамеров на клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 по сравнению с клетками нормального эпителия молочной железы MCF-10A.

В главе «Обсуждение результатов» автор детально анализирует полученные данные и сравнивает их с отдельными опубликованными данными. В результате такого анализа автор подтверждает плейотропный механизм действия G4-аптамеров, а также выделяет группу наиболее биологически активных G4-аптамеров (As-GGG, G4-STAT3, G4-TGT, G4-CCC, AS1411 и G4-SHP2).

Автором выполнено законченное исследование, все поставленные задачи решены, цель работы успешно достигнута, а полученные данные интересны и важны не только с фундаментальной, но и с практической точки зрения.

Оценивая работу в целом, отмечу, что она написана хорошим русским языком; тщательно стилистически и грамматически отредактирована; логически структурирована; подробно, ясно и очень аккуратно иллюстрирована; результаты тщательно обработаны современными методами математической статистики. Замечаний по дизайну исследования, внутренней логике построения работы, полученных результатов и сделанных выводов нет.

Результаты опубликованы в 9 публикациях, среди которых 6 статей в журналах перечня ВАК, 3 из которых в журнале 1-го квартиля библиографической и реферативной базы SCOPUS.

## Заключение

Таким образом, диссертационная работа Оглоблиной Анны Максимовны «Мультитаргетные эффекты G4-аптамеров и их противоопухолевая активность *in vitro*» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи – установления плеiotропного механизма действия G4-аптамеров. Диссертационная работа соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

### Старший научный сотрудник

Отдел хроматографического анализа,  
НИИ им. А.Н.Белозерского,  
МГУ им. М.В. Ломоносова,  
Доктор биологических наук, доцент  
(03.01.02 - Биофизика, 03.01.03 - Молекулярная биология (биол. науки))

Спиридонова Вера Алексеевна

02.06.2022

Подпись д.б.н., доцента Спиридоновой В.А. заверяю

Директор

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени  
А.Н.Белозерского,

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Академик

Скулачев Владимир Петрович



Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени  
А.Н.Белозерского,

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,

Адрес 119234, Москва, Ленинские горы, д1, стр40

<https://www.belozersky.msu.ru>, E-mail: [fxb@genebee.msu.ru](mailto:fxb@genebee.msu.ru)