

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации А.М. Оглоблиной “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.

Рост и развитие опухолевой ткани – комплексный сложносоставной процесс, на подавление которого направлено действие различных по характеру и типу воздействия противоопухолевых препаратов. Несмотря на значительный прогресс в лечении онкологических заболеваний, совершенный благодаря использованию таргетной терапии и иммунотерапии, эти методы эффективны для ограниченных подгрупп пациентов, обладающих определенными молекулярно-генетическими характеристиками. Поэтому поиск и разработка новых препаратов, способных ингибировать рост и деление опухолевых клеток, остается важным вызовом современной онкологии.

На сегодняшний день хорошо известно, что высокоселективное ингибирование лишь одного из сигнальных путей в опухолевой клетке, как правило, приводит к ограниченному ответу, а также в последствии к возникновению резистентности. Поэтому, для повышения общей эффективности противоопухолевых препаратов целесообразно использовать мультитаргетные агенты, способные одновременно подавлять в опухолевой клетке несколько ключевых процессов.

G-квадруплексы (G4) представляют собой структурные элементы ДНК и РНК, участвующие в регуляции экспрессии генов. Они часто ассоциированы с промоторами онкогенов и являются мишениями для взаимодействия с ферментами, крайне важными для жизнедеятельности злокачественных клеток. Это открывает возможность к применению экзогенных гуанинбогатых олигонуклеотидов (G4-аптамеров), способных формировать G4 и связываться с белками, стимулирующими процессы деления клетки. Попадая в клетку, G4-аптамеры связываются с соответствующими ферментами и ингибируют их активность. Интересно отметить, что разные G4-аптамеры потенциально могут взаимодействовать не только с «целевым» белком, к которому они были разработаны, но и с какими-либо другими G4-распознающими белками в связи со схожестью структурных детерминант.

Таким образом, G4-аптамеры в настоящее время рассматриваются как потенциальные противоопухолевые мультитаргетные агенты. Особую перспективность использования G4-аптамеров в медицинской практике объясняют их стабильностью и дешевизной синтеза.

В данной диссертационной работе соискателем проведена оценка мультитаргетного эффекта G4-аптамеров путем анализа их эффектов на ряд белков, которые при их разработке не рассматривали в качестве мишней. В частности, рассмотрены эффекты G4-аптамеров, разработанных к нуклеолину (AS1411), к VEGF в отношении топоизомеразы I и STAT3.

Дизайн исследования адекватен поставленной задаче. Для выбранных из современных научных публикаций перспективных G4-аптамеров, предлагаемых в качестве потенциальных противоопухолевых агентов, автором была продемонстрирована связь биологической активности и особенностей их структуры. Для изучения пространственной структуры выбранных G4-аптамеров были использованы современные физико-химические методы, такие как УФ-плавление и круговой дихроизм. Оценка селективности противоопухолевого действия G4-аптамеров была продемонстрирована путем сравнения цитотоксического эффекта, оказываемого G4-аптамерами в отношении клеток adenокарциномы молочной железы MCF-7 и условно-нормальные клетки эпителия молочной железы MCF-10A.

Основные положения диссертации отражены в 6 научных статьях – в рецензируемых научных журналах перечня ВАК Минобрнауки России.

Все использованные в диссертационном исследовании методы адекватны поставленным научным задачам, а достоверность и новизна полученных результатов не вызывает сомнений. Выводы, а также научные положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют полученным результатам исследования.

Автореферат дает полное представление о выполненной автором работе, написан четко и грамотно. Принципиальных замечаний по автореферату не имеется.

Таким образом, диссертационная работа А.М. Оглоблиной на тему “Мультитаргетные эффекты G4-аптамеров и их противоопухолевая активность *in vitro*”, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6 – Онкология, лучевая терапия, представляет собой самостоятельное законченное научное исследование, выполненное по актуальной теме современной медицинской науки, полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (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, и может быть представлена в специализированный диссертационный совет специальности 3.1.6 – Онкология, лучевая терапия.

Старший научный сотрудник

Лаборатории регуляции экспрессии генов и

Лаборатории молекулярной медицины

Института цитологии РАН, к.б.н.

Шувалов О.Ю.

17.06.2022



Подпись О.Ю. Шувалова заверяю.  
Ученый секретарь ИЦ РАН, к.б.н.

И. И. Тюряева  
17.06.2022

**ОТЗЫВ**  
**на автореферат диссертации А.М. Оглоблиной “Мультитаргетные эффекты G4-аптамеров и их противоопухолевая активность *in vitro*”, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия.**

Разработка ингибиторов биологических процессов на основе ДНК и РНК олигонуклеотидов является актуальным и активно развивающимся направлением современной физико-химической биологии. Олигонуклеотидные конструкции, специфично взаимодействующие с определенными молекулами-мишениями, получили название аптамеры. Аптамеры, ассоциированные с канцерогенезом, находят свое применение в направленной терапии злокачественных новообразований.

Большинство известных на сегодняшний день аптамеров склонны к формированию неканонических структур, таких как выплетивания нуклеотидов, шпильки с неканоническими парами и G-квадруплексы (G4-аптамеры). Именно структурные свойства аптамеров определяют их функции. К настоящему моменту известно несколько G4-аптамеров к белкам – мишениям для потенциальной противоопухолевой терапии. Наиболее исследованный G4-аптамер AS1411 прошел вторую фазу клинических испытаний как противоопухолевый препарат.

В геномах высших организмов распространены последовательности, которые потенциально способны формировать G-квадруплексные структуры. При этом промоторные области многих генов, в том числе онкогенов, обогащены G4-последовательностями. Регуляторная функция таких участков ДНК осуществляется благодаря способности переходить из классической В-формы ДНК в неканоническую форму G-квадруплекса. Известно, что G-квадруплексные структуры склонны взаимодействовать с целым рядом внутриклеточных белков. Стабилизация или дестабилизация G-квадруплекса такими белками способна вносить изменения в профиль экспрессии генов, реализуя участие G-квадруплексов в динамических процессах жизнедеятельности клетки.

G4-аптамеры, имитируя эндогенные G-квадруплексные структуры, могут конкурировать с белками и ингибировать их взаимодействие с геномной ДНК. Однако, общие структурные паттерны,ственные всем G-квадруплексам, ставят под вопрос селективность действия подобных потенциальных противоопухолевых препаратов.

Результаты, приведенные в настоящем исследовании, подтверждают, что G4-аптамеры обладают множественным эффектом, то есть способны ингибировать активность различных G4-связывающих белков. Так, с использованием современных молекулярно-биологических и физико-химических подходов в данном исследовании автором продемонстрировано, что биологическая активность G4-аптамеров зависит от типа структуры, которую они формируют. Перекрестная биологическая активность G4-аптамеров была показана на примере ингибирования двух белков-мишеней противоопухолевой терапии (STAT3 и TOP1) с использованием адекватных биологических контролей. Специфичность G4-аптамеров в отношении опухолевых клеток была продемонстрирована путем сравнения цитостатического эффекта, оказываемого G4-аптамерами на клетки adenокарциномы молочной железы (MCF-7) и

на условно-нормальные иммортализованные клетки эпителия молочной железы (MCF-10A).

Результаты данной работы однозначно открывают перспективы для решения фундаментальных вопросов связи структуры и функции ДНК, а так же послужат опорой для последующих разработок G4-аптамеров как противоопухолевых агентов.

Автореферат изложен на 24 страницах, включает в себя все необходимые разделы, содержит 3 таблицы и 7 рисунков, автореферат в полной степени отражает основные разделы диссертации,

Принципиальных замечаний по автореферату нет, хотя в тексте присутствуют некоторые не точности. Так, например, фактор транскрипции SP1 назван ферментом.

Таким образом, диссертационная работа Анны Максимовны на тему “Мультитаргетные эффекты G4-аптамеров и их противоопухолевая активность *in vitro*”, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6 – Онкология, лучевая терапия, представляет собой самостоятельное законченное научное исследование, выполненное по актуальной теме современной медицинской науки, полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (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, и может быть представлена в специализированный диссертационный совет специальности 3.1.6 – Онкология, лучевая терапия.

к.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник  
Калюжный Дмитрий Николаевич  
Лаборатория ДНК-белковых взаимодействий,  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук  
(ИМБ РАН)  
Адрес: ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН

Подпись Д.Н. Калюжного удостоверяю:  
ученый секретарь ИМБ РАН



15.06.2022

Бочаров А.А.