

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Пыхтиной М.Б.
«Аполипопротеин AI-содержащие химерные полипептиды как система
доставки терапевтических биомолекул», представленной на соискание
ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.4 – биохимия

Амфифильная молекула аполипопротеина AI (ApoA-I) хорошо известна в качестве транспортной белковой молекулы, входящей в состав липопротеинов высокой плотности (ЛВП), повышение концентрации которых в циркулирующей крови связывают с уменьшением риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. В последнее время аполипопротеины рассматриваются как перспективные молекулярные транспортные системы для эффективной доставки терапевтических агентов в целевые ткани. Диссертационная работа М.Б. Пыхтиной посвящена фундаментальной проблеме потенциального использования ApoA-I в качестве транспортного вектора для доставки целевых молекул плазмидной ДНК или белка терапевтического характера в клетки-мишени. Решение этой проблемы в работе осуществлено путем выполнения задач как молекулярно-биологического, так и функционально-фармакологического характера. Блестящее выполнение поставленных задач делает работу цельной и законченной.

Среди особо значимых результатов следует выделить получение диссертанткой рекомбинантных химерных белков на основе ApoA-I и гистона H2A, которые оказались способными образовывать устойчивые молекулярные комплексы с плазмидной ДНК, которые могли эффективно транспортировать ее в ядра эукариотических клеток-мишеней в условиях *in vitro*. Такие химерные белки, связанные с плазмидной ДНК, несущей важные последовательности с терапевтическим потенциалом, очевидно, будут претендовать на альтернативное решение проблемы доставки генетического материала в клетки взамен вирусных векторных систем.

Вторым важным достижением работы является создание химерных белковых конструкций на основе ApoA-I и некоторых цитокинов, в качестве которых использованы два колониестимулирующих миелопоэз фактора (G-CSF и GM-CSF), а также интерферон-альфа. Эта генно-инженерная часть работы, блестяще выполненная, подкреплена рядом функциональных тестов. Так, было показано, что химерная форма интерферона (в связи с ApoA-I) по своей антивирусной активности не уступает «чистому» интерферону по способности тормозить цитопатическое действие вируса на клетки-мишени в условиях культивирования *in vitro*. А фармакокинетический анализ времени полувыведения показал достоверное преимущество химерной формы по длительности циркуляции в организме мышей после подкожного введения, что связано, очевидно, с протективной способностью

химерного белка в отношении компонентов плазмы крови. В связи с этим интересно было бы провести сравнение химерного комплекса АроА-I – IFN с пегелированными формами интерферона, широко используемыми в терапии вирусных заболеваний, по способности к длительной циркуляции в организме.

Исследование с помощью метода проточной цитометрии влияния химерных и «чистых» форм рекомбинантных колониестимулирующих факторов на выживаемость гранулоцитов при культивировании суспензии клеток костного мозга показало, что химерная форма оказывает значимо больший положительный эффект, очевидно, за счет снижения апоптоза. Кроме того, было показано, что химерные цитокины оказывали стимулирующий эффект на пролиферацию моноцитарного ростка миелопоэза, причем, за счет увеличения ранних бластных форм. Эти данные представляют большой интерес в плане улучшения показателей цитокинотерапии за счет создания новых транспортных систем для цитокинов.

В целом, можно заключить, что разработанные диссертанткой молекулярно-генетические подходы к созданию новых транспортных молекул для переноса генетического материала и белковых молекул потенциально терапевтического характера на основе АроА-I являются новым вкладом в молекулярную биотехнологию.

Таким образом, судя по автореферату, диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам автор достоин присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Старший научный сотрудник
отдела новых технологий
ФБУН НИИ микробиологии и
эпидемиологии имени Пастера, д.б.н

Н.Н. Беляев

Лодисев А.А. Б.

М.О. М.

Веризко

Олег Карев

В.И. Карев

А.В. Карев

Беляев Николай Николаевич доктор биологических наук, старший научный сотрудник
НИИ микробиологии и эпидемиологии имени Пастера, 197101, г. Санкт-Петербург, ул.
Мира, д.14; nikobel@gmail.com