

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата физико-математических наук Ломовой М.В.

на диссертацию Авдеевой Елены Сергеевны

«Доставка биомолекул в клетки с использованием слоев наночастиц золота и инфракрасного лазерного облучения», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 Биофизика

Вопросы генной инженерии, генной терапии в частности, являются актуальной тематикой исследований. Доставка нуклеиновых кислот, как наиболее перспективных методик терапии, является сложной и окончательно нерешенной задачей. Успешные специалисты в данной области должны работать на стыке наук биологии, химии и физики, так как поднимаемый вопрос в диссертации является достаточно многофакторным. Авдеевой Е.С. удалось в полной мере проявить глубину и широту знаний, а также показать исполнительность и высокую квалификацию в представлении результатов материалов.

Обратимся к отдельным главам и разделам диссертации Авдеевой Е.С.

Во **введении** описана научная задача, на решение которой направлено исследование, поставлены цели и задачи. Отдельно хочется отметить, что вопрос, поднимаемый Авдеевой Е.С., по внутриклеточной доставке на основе микро- и наночастиц, которые капсулируют нуклеиновые кислоты, является популярным ввиду перспектив, которые открываются при его комплексном решении, но при этом он до конца не решенный. Реализация такой методики позволит решать вопросы с лечением и профилактикой различного рода заболеваний, а также может служить основой для паллиативной медицины. Сочетание с физическими методиками воздействия предопределяет успешной такой методики проникновения в клетки для доставки активных компонентов.

Интересными и заслуживающими отдельного внимания является **научная новизна** диссертационного исследования, которая фокусируется вокруг тематики оптопорации животных клеток, как наиболее эффективном механизме доставке лекарственных средств.

Практическая значимость работы верифицируется физическими и биологическими методиками, описанными в работе. Несомненно, что внутриклеточная доставка нуклеиновых кислот может быть реализована посредством носителей на основе наночастиц, а имеющийся клеточный механизм, основанный на улучшенной проницаемости и удержании наноразмерных носителей, позволит достигнуть оптимального накопленного количества носителей.

Обзор литературы представлен очень широко, введены основные понятия, автор работы поэтапно вводит цели и задачи диссертационного исследования, акцентируется на основных законах и понятиях. Описаны основные нуклеиновые кислоты, которые используют для доставки, основные барьеры внутриклеточной доставки, а также пути оптимизации носителей в реальных условиях. Редактирование генома с помощью CRISPR/Cas9 является одним из популярных направлений многих мировых исследований, что также описано достаточно подробно в работе Авдеевой Е.С. Кроме того автор провел сравнение вирусных и невирусных объектов доставки лекарственных средств, показал основных их свойства. В качестве пожелания к этой главе стоило бы уточнить механизмы реализации интернализации носителей посредством электрических и магнитных полей, как физических стимулов доставки.

Глава, посвященная **материалам и методам**, написана очень подробно, продуманно и последовательно. Такой стиль изложения возможен только в случае, если работа полностью выполнена лично, а также качественно продуман ход экспериментов, что и подтверждает непосредственное и высококачественное выполнение работы Авдеевой Е.С.

Глава 3 по получению и характеристике монослоев наночастиц представляет результаты получения и исследований целого спектра физико-химических и биологических методов. Таким образом комплекс этих исследований показал, что была разработана универсальная технология приготовления слоев наночастиц на различных субстратах (культуральном пластике, стекле, пластинках диоксида кремния и т.п.). Проведенные тесты свидетельствуют о полной биосовместимости полученных химически устойчивых покрытий для культивирования различных типов постоянных клеток млекопитающих, об отсутствии значимых эффектов облучения на слой НЧЗ и возможности их многократного использования для оптопорации.

Глава 4 посвящена экспериментальному подбору параметров для оптопорации клеток и поиску наиболее оптимального механизма воздействия. Был выявлен ряд оптимальных параметров импульсного облучения (длительность импульса (200 нс), скважность импульса (10 кГц) и скорость сканирования (20 мм/с)), а также ряд выводов о платформе для инкапсулирования нуклеиновых кислот на основе золотых наночастиц.

Глава 5, посвященная характеристике оптотрансфекции в клетки, в том числе в «трудно трансфицируемые» клетки, является одной из наиболее красочных, экспериментально нагруженных, а также содержащая наибольшее количество принципиально новых научных выводов. Нельзя не отметить, что визуальный ряд, который формируют рисунки диссертации, является легко воспринимаемым и интуитивно понятным. Были сделаны

выводы об универсальности платформы на основе наночастиц золота для оптотрансфекции.

Глава 6 является концентратом всех экспериментальных данных, которые были получены. В рамках этого раздела строятся выводы об универсальности применяемой модели для оптопорации, показано, что модель обладает свойством продолжительного сохранения проницаемости мембран клеток для доставляемых агентов как минимум в течение 2-3 ч после оптопорации импульсным, и более 20 ч при оптопорации непрерывным лазерами на слоях наночастиц золота, что не наблюдается ни для одной имеющейся на данный момент модели, судя по анализу литературных данных.

Ставящиеся Авдеевой Е.С. цель и задачи исследования были выполнены полностью, что подтверждается положениями, которые успешно защищаются диссертантом. Отдельно хочется отметить положение, которое посвящено эффективности оптотрансфекции под действием лазера, которое было оценено на примере доставки плазмидной ДНК. Оценки, которые приводит диссертант здесь и далее всегда имеют сравнительную базу, что существенно повышает качество проводимого исследования.

Апробация работы, опубликованные статьи дают основание сказать, что уровень исследования является значительным, а тематика находится в топе мировых научных исследований.

Большим вкладом является качественный и всесторонний экспериментальный и теоретический анализ, посвященный оптопорации клеток. Диссертанту удалось описать данную тематику подробно, что дает возможность в дальнейшем использовать описанные подходы не только в лаборатории, но и для клинических фаз исследований.

Все используемые методики, используемые Авдеевой Е.С. в диссертационной работе являются верифицируемыми и применяются в современных протоколах исследований.

В качестве пожелания хочется предложить автору расширить спектр требований к клеточным линиям, которые могут подходить для их оптопорации.

По своему содержанию, целям и задачам, научной новизне, научно-практической значимости работы, достоверности научных результатов, степени обоснованности выдвигаемых положений и выводов диссертационная работа Авдеевой Е.С. полностью соответствует

требованиям пп. 9-11,13,14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор, Авдеева Елена Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 Биофизика.

Доцент кафедры физики полупроводников
Института физики
ФГБОУ ВО «Саратовский
национальный исследовательский
государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского»
к.ф.-м.н.

 Ломова Мария Владимировна

Тел.: 8-8452-51-11-81

Адрес электронной почты: lomovamv85@mail.ru

Почтовый адрес: 410010, г. Саратов,
ул. Б. Казачья, д. 112а, 8 корпус СГУ

17 мая 2021

