

## Отзыв

на автореферат диссертации Кузьмича Алексея Ивановича  
«Использование натрий-йодидного симпортера (NIS) для детекции доставки  
генотерапевтических агентов в опухолевые клетки», представленной к защите на  
соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология»

Диссертационная работа Кузьмича Алексея Ивановича посвящена созданию репортерной системы, позволяющей отслеживать процесс доставки генно-терапевтических препаратов (ГТП) в ткань опухоли, и изучению особенностей ее работы в клеточных и животных моделях. Разработка генно-терапевтических препаратов невозможна без проведения испытаний *in vivo*, которые позволяют изучать эффективность доставки генетического материала в целевые ткани, а также распределение ГТП в организме модельного животного. Для решения этих вопросов широко используется подход, получивший название биовизуализация, который заключается в использовании специальных репортерных генов, продукты экспрессии которых в модельном организме можно детектировать с помощью неинвазивных физических методов. В качестве основы для такой системы автором был выбран ген натрий-йодидного симпортера (NIS), сочетающий в себе свойства как высокочувствительного репортера для биовизуализации, так и терапевтического гена для использования при радиотерапии опухолей. Актуальность данной работы не вызывает сомнения.

Автором был создан ряд экспрессионных конструкций, позволяющих обеспечивать продукцию активного NIS при транзientной трансфекции меланомных клеток. В условиях транзientной трансфекции было изучено, как экспрессируется этот репортерный ген под контролем регуляторных элементов различной активности и специфичности. Была выявлена нелинейная зависимость между активностью промотора и уровнем содержания NIS в трансфицированных меланомных клетках.

В экспериментах *in vitro* были изучены кинетические параметры данной репортерной системы и выявлены ее определенные ограничения, связанные с быстрой потерей йода клетками, наблюдаемой при удалении из внешней среды радиопрепарата. В рамках решения данной проблемы была исследована возможность повышения удержания захваченного йода путем коэкспрессии NIS с геном лактопероксидазы, способной катализировать окисление йодида. Хотя этот подход не привел к желаемому эффекту, проведенные эксперименты могут способствовать поиску других путей преодоления обнаруженного ограничения.

На модели мышинной меланомы с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии была показана возможность биовизуализации клеток опухоли, стабильно экспрессирующих NIS, а также привитых опухолевых клеток, трансфицированных путем системного введения репортерного гена в составе комплексов плазмидной ДНК и носителя на основе поликатионного полимера. При этом в рамках данного подхода удалось показать, что полиплексы, содержащие специфический лиганд, обеспечивают более высокий уровень доставки гена в опухоли меланомы.

На основании полученных результатов и их подробного обсуждения автор формулирует шесть выводов, которые полностью подтверждаются представленными экспериментальными данными и не противоречат данным научной литературы.

Автореферат грамотно написан, хорошо иллюстрирован и в полной мере дает информацию об исследовании. Критических замечаний к автореферату диссертации нет.

Работа Кузьмича А.И. выполнена на высоком уровне, с использованием современного оборудования и методов молекулярной биологии. Цель и задачи, поставленные в работе, достигнуты, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Результаты работы были опубликованы в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК РФ и представлены на российских и международных научных конференциях. Они обладают несомненной новизной и имеют как научную, так и практическую ценность.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Кузьмича А.И. полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Кузьмич А.И., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Старший научный сотрудник  
лаборатории регуляции внутриклеточного протеолиза  
ФГБУН Института молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук  
к.б.н.



Стародубова Е.С.

119991, г. Москва, ул. Вавилова, д.32  
т.(499)135-98-01 , e-mail: estarodubova@yandex.ru

