

ВИСНОВОК

наукового керівника Олександра МІНЧЕНКА,
д.б.н., професора, член-кор. НАН України, завідувача відділу
молекулярної біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
на дисертаційну роботу **Мирослави СЛЮСАР**
“Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у
клітинах гліоми”,
що подається на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09
Біологія, за спеціальністю 091 Біологія

1. Особливості проходження підготовки в аспірантурі та виконання освітньо-наукової програми підготовки доктора філософії

Мирослава СЛЮСАР зарахована до аспірантури з відривом від виробництва зі спеціальності «091 Біологія» Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (Інституту) з 01 листопада 2022 року (Наказ № 10-а від 24.10.2022 р.) для виконання освітньо-наукової програми (ОНП) підготовки за навчальним планом освітньої складової (36 кредитів ЄКТС) для здобуття вищої освіти ступеня доктора філософії. Рішенням Вченої ради Інституту від 20.01.2023 р. (Протокол № 1) затверджений індивідуальний план наукової роботи та тема дисертації “Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліоми”. Звітування щодо виконання індивідуального плану ОНП підготовки доктора філософії подавалося щороку згідно строків (1-й рік – 31.10.2023 р.; 2-й рік – 21.10.2024 р.). Всі блоки ОНП, обов’язкові дисципліни та дисципліни за вибором здобувача і вибором Інституту, Мирославою СЛЮСАР освоєні успішно та у повному обсязі. Протягом 2022-2025 рр. нею повністю завершено експериментальну роботу, рукопис дисертації і опубліковано статті в фахових журналах з висвітленням матеріалів дисертації. Всю документацію для звітування здобувачка оформлювала та надавала вчасно.

2. Особливості формування індивідуальної освітньої траєкторії та виконання індивідуального плану здобувача

За час навчання в аспірантурі Мирослава СЛЮСАР набула рівня компетентності, що відповідає вимогам підготовки доктора філософії, який складається з трьох основних блоків. Загально-науковий блок охоплював

засвоєння знань і досягнення результатів навчання з обов'язкових навчальних дисциплін, а також за вибором Інституту та вільного вибору аспіранта. До універсальних навичок дослідника відносилося оприлюднення власних результатів дослідження у фахових наукових виданнях та їх апробація на наукових конференціях і конгресах. Спеціальні навички охоплювали здатність до продукування нових ідей та розв'язання комплексних проблем у галузі професійної і/або дослідницько-інноваційної діяльності, а також до застосування сучасних методологій, методів та інструментів педагогічної і наукової (творчої) діяльності за фахом.

Обов'язкові навчальні дисципліни, а саме філософія науки та культури, іноземна мова за професійним спрямуванням, організація підготовки дисертації, педагогіка вищої школи, асистентська педагогічна практика були успішно завершені та складені на «відмінно» (91-100 балів за шкалою закладу освіти), а комплексний іспит зі спеціальності на «добре» (89 балів). Також на «відмінно» були складені дисципліни вибору Інституту (95 балів) і дисципліни вільного вибору аспіранта (95-100 балів), а три дисципліни вільного вибору на «добре» (80-89 балів). У ході проходження асистентської педагогічної практики були підготовлені освітні матеріали та проведено 4 лекційних, 4 семінарських і 4 практичних занять для студентів, що виконували курсові і дипломні роботи у відділі молекулярної біології, а також здійснювалася кураторська робота над проходженням виробничої практики закріплених за здобувачкою студентів, яка полягала у консультуванні та контролі їх самостійної роботи за темою кваліфікаційної роботи бакалавра.

Універсальні навички здобувача були закріплені та підтверджені у ході написання статей і тез за матеріалами дисертаційної роботи. Зокрема, було опубліковано 15 робіт, з них 4 статті в іноземних фахових наукових виданнях, представлених в базах Scopus, WoS та PubMed, і 11 тез доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та конгресів.

Спеціальні навички для забезпечення здатності до продукування нових ідей і розв'язання комплексних проблем у галузі біохімії та молекулярної біології були здобуті шляхом детального аналізу і обговорення статей, опублікованих у

престижних міжнародних журналах, з подальшим висуненням аспіранткою ідей про нові шляхи вирішення ключових проблем біохімії та молекулярної біології. Частина ідей була реалізована у ході пошукових досліджень із застосуванням сучасних методів молекулярної біології. Використання методів біоінформатики також збагатило навички аспірантки до продукування нових ідей і розв'язання комплексних проблем регуляції експресії генів, зокрема на пост-транскрипційному рівні. Ідея про роль транскрипційних факторів у механізмах контролю експресії генів була збагачена аналізом промоторних ділянок генів на наявність сайтів зв'язування цих факторів. Мирослава СЛЮСАР розробила свої педагогічні підходи у роботі із студентами, виконанні кваліфікаційної роботи та її презентації. Її наукова діяльність за фахом також була насичена новими ідеями про молекулярні механізми регуляції експресії генів за гіпоксії та дефіциту глутаміну і глюкози в залежності від IRE1, про роль протеїнкінази IRE1 у контролі експресії генів.

3. Успіхи у набутті компетентностей наукового пошуку

Мирослава СЛЮСАР у 2022 році закінчила Київський національний університет імені Тараса Шевченка за спеціальністю «091 Біологія» і за час навчання в аспірантурі за ОНП підготовки доктора філософії в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна вона досягла значних теоретичних і практичних успіхів у галузі біохімії та молекулярної біології.

Згідно з сучасною класифікацією компетентностей вказаних у методичних рекомендаціях щодо стандартів вищої освіти (згідно наказу Міністерства освіти і науки України від 01.06.2017 р. № 600 (у редакції наказу Міністерства освіти і науки України від 30.04.2020 р. № 584)) здобувачем досягнені наступні результати у ході проходження програми підготовки для здобуття наукового ступеня доктора філософії:

Знання: Мирослава СЛЮСАР детально ознайомилася із сучасними досягненнями у вивченні молекулярних механізмів розвитку і росту злоякісних пухлин клітини і ролі гіпоксії та стресу ендоплазматичного ретикулума, що знайшло відображення в розділі дисертаційної роботи “Огляд літератури”. Вона також ознайомилася із методологією досліджень та статистичного аналізу

результатів дослідження, успішно використала набуті знання при плануванні роботи, що відображено у розділі “Матеріали і методи” її дисертації.

Уміння 1: Мирослава СЛЮСАР успішно освоїла сучасні методи біохімії та молекулярної біології, які вважала необхідними для виконання конкретних завдань своєї дисертаційної роботи, а у процесі роботи висувувала нові ідеї і деякі із них успішно втілювала у життя.

Уміння 2: Вона започаткувала свою роботу з постановки конкретних завдань, виконання яких повинно було сприяти досягненню поставленої мети, коригування послідовності їх виконання та аналізу отриманих результатів, їхньої достовірності.

Уміння 3: Мирослава СЛЮСАР постійно аналізувала отримані результати, синтезувала нові ідеї і намагалася їх реалізувати. Особливо це стосувалося аналізу змін в експресії тих чи інших генів, на що вони вказують та як їх трактувати, чи можуть вони допомогти розшифрувати механізми пригнічення проліферації клітин за нокдауну ERN1.

Комунікація 1: Мирослава СЛЮСАР вільно спілкується з питань механізмів гіпоксичної регуляції експресії генів за умов стресу ендоплазматичного ретикулума, різних форм нокдауну ERN1, а також дефіциту глюкози і глутаміну, стосовно унікальної ролі синтезу та метаболізму серину у рості злоякісних пухлин, неодноразово представляла результати своїх досліджень на вітчизняних і міжнародних наукових форумах, у тому числі й на Українському біохімічному конгресі.

Комунікація 2: Свої доповіді вона робила як академічною українською мовою, так і англійською. У професійній діяльності та дослідженнях використовує академічну українську мову і за необхідності – англійську.

Відповідальність та автономія 1: Мирослава СЛЮСАР користується повагою і авторитетом серед колег, здатна самостійно ставити та виконувати наукові задачі. Для неї характерна доброчесність, послідовна відданість створенню нових ідей у своїй професійній діяльності і їх розвитку.

Відповідальність та автономія 2: Вона постійно вдосконалює та поглиблює свої знання, для неї характерним є самовдосконалення та навчання цьому інших.

4. Актуальність теми дисертаційної роботи

Як зазначалося вище, тема дисертаційної роботи Мирослави СЛЮСАР сформульована наступним чином: “Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліоми”. Численні наукові публікації присвячені дослідженню злоякісних новоутворень свідчать про особливу тяжкість лікування пухлин головного мозку, зокрема таких як гліобластоми. Наявні методи лікування мають недоліки, зокрема, відсутність специфічності, полі-резистентність до лікарських препаратів та гіпоксії. Ріст злоякісних пухлин пов'язаний з перепрограмуванням геному і саме тому, з'ясування молекулярних механізмів цього перепрограмування, виявлення ролі ключових транскрипційних регуляторів та механізмів їх контролю сигнальними шляхами стресу ендоплазматичного ретикулума і гіпоксії є дуже важливим та перспективним напрямком пошуку нових підходів до лікування гліобластом. Деякі із досліджених у цій роботі транскрипційних факторів і мікроРНК можуть бути використані також як мішені для розробки нових методів лікування злоякісних новоутворень.

5. Зв'язок роботи з науковими програмами, темами, планами.

Дисертаційну роботу виконано протягом 2022–2025 рр. у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України у рамках проведення планових досліджень за бюджетною темою «Молекулярні механізми взаємодії сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії в репрограмуванні геному клітин гліоми», № ДР 0121U100662 (2021–2025 рр.).

6. Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше була виявлена залежність рівня експресії генів, що контролюють синтез і метаболізм серину, від пригнічення ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума. Встановлено, що виявлені зміни в експресії досліджених генів у культурі клітин гліобластоми лінії U87MG були

гено-специфічними, причому для більшості генів були різними у клітинах без обох ензиматичних активностей ERN1 та клітинах лише без ендорибонуклеази ERN1. Виявлене Мирославою зниження експресії генів, які контролюють синтез серину, у клітинах з пригніченою функціональною активністю ERN1 добре узгоджуються з їх зниженим проліферативним потенціалом, оскільки посилення експресії ензимів синтезу серину є важливою умовою посиленого росту злоякісних пухлин. Отримані результати продемонстрували важливу роль ендорибонуклеази ERN1 у регуляції експресії гена *ATF4*, оскільки як у клітинах гліоми з пригніченою ендорибонуклеазною активністю сигнального протеїну ERN1, так і у клітинах без обох ензиматичних активностей ERN1 зміни рівня експресії цього гена істотно не відрізнялися за величиною. Вперше показано, що саме протеїнкізна активність ERN1 є ключовим регулятором експресії генів *PHGDH*, *SHMT1* та *SHMT2*, оскільки інгібування ендорибонуклеазної активності цього сигнального протеїну істотно не впливало на рівень їх експресії, і лише за умов пригнічення обох ензиматичних активностей протеїну ERN1 (протеїнкізна та ендорибонуклеазна) рівень експресії цих генів змінювався.

Вперше показано, що експресія всіх генів, що контролюють синтез та метаболізм серину, є чутливою до гіпоксії у контрольних клітинах гліобластоми, трансфікованих порожнім вектором, причому зміни рівня їх експресії були різними як за величиною ефекту, так і за напрямком змін для всіх цих генів. Встановлено також, що пригнічення обох ензиматичних активностей сигнального протеїну ERN1 змінює чутливість генів *PHGDH*, *PSAT1*, *PSPH* та *ATF4* до гіпоксії, а це свідчить про залежний від ERN1 контроль гіпоксичної регуляції рівня експресії більшості досліджених нами генів. Ці результати є підґрунтям для розкриття механізмів резистентності пухлинних клітин, у тому числі і клітин гліобластоми, до токсичних ефектів гіпоксії за умов стресу ендоплазматичного ретикулума.

Принципово нові результати були отримані при вивченні чутливості експресії генів, які забезпечують синтез та метаболізм серину, до дефіциту як глутаміну, так і глюкози, причому пригнічення обох ензиматичних активностей ERN1 посилює чутливість усіх генів до цих експериментальних умов за

винятком *SHMT1*. Ці результати вказують на ERN1-залежний характер чутливості клітин гліобластоми до забезпечення їх глюкозою та глютаміном.

7. Наукове та практичне значення дослідження

Отримані результати мають важливе наукове значення, оскільки була вирішена актуальна наукова проблема щодо молекулярних механізмів регуляції експресії генів синтезу та метаболізму серину за різних умов пригнічення ензиматичних активностей сигнального протеїну ERN1 у клітинах гліобластоми. Практичне значення отриманих результатів полягає у виявленні ролі протеїнкіназної і ендорибонуклеазної активностей ERN1 у регуляції експресії генів, задіяних у синтезі та метаболізмі серину, пригнічення яких може бути причетним до зниження проліферативного потенціалу клітин гліоми, а також в ідентифікації мікроРНК, які контролюють експресію мРНК PSAT1, PSPH і SHMT1 на пост-трансляційному рівні та можуть бути потенційними мішенями для пригнічення проліферації клітин гліобластоми. Виявлений нами ERN1-залежний характер чутливості клітин гліобластоми до гіпоксії є підґрунтям для розкриття механізмів резистентності пухлинних клітин до токсичних ефектів гіпоксії за стресу ендоплазматичного ретикулума, що має важливе значення при розробці нових підходів до лікування злоякісних новоутворень.

8. Повнота викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях

Результати, представлені у дисертації висвітлені у 4 наукових статтях іноземних фахових видань, які представлені у наукових базах Scopus, WoS і PubMed, та 11 тезах доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій і конгресах.

9. Структура та зміст дисертації, її завершеність і відповідність установленим вимогам щодо оформлення

Структура та зміст дисертації відповідають вимогам щодо оформлення цих рукописів згідно Наказу МОН №40 від 12.01.2017 р. Дисертація містить всі структурні елементи, такі як титульний аркуш, анотація (українською та англійською мовами), зміст, перелік умовних скорочень, основна частина, список використаних джерел і додаток. Дисертаційна робота викладена на 167 сторінках друкованого тексту, основна частина складається із вступу, чотирьох

розділів (огляд літератури, матеріали та методи, результати досліджень і обговорення результатів) та висновків. Робота містить 53 рисунки і 4 таблиці, список використаних літературних джерел включає 205 посилання. Робота є завершеною та відповідає всім установленим вимогам щодо оформлення.

10. Дотримання принципів академічної доброчесності

Дисертаційна робота здобувачки Мирослави СЛЮСАР повністю відповідає п.12 Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., №44 щодо вимог доброчесності, оскільки не містить плагіату, самоплагіату, фальсифікації і фабрикації, містить результати, отримані особисто, у всіх інших випадках наводяться посилання на співавторів наукових публікацій та відповідні джерела.

11. Дискусійні положення та зауваження до дисертації

На даний момент зауважень до дисертації не маю, оскільки всі зауваження, що виникали за час виконання і написання дисертаційної роботи були повністю враховані авторкою дисертації. Ця робота є фундаментальною працею, що ініціює появу принципово нових ідей та низку дискусійних положень. Саме в цьому я бачу головну цінність цієї дисертаційної роботи. Одним із найважливіших дискусійних положень є “Важливість пригнічення стресу ендоплазматичного ретикулума для боротьби з пухлинним ростом”, оскільки в її наукових публікаціях чітко продемонстровані зміни в експресії мРНК і мікроРНК у клітинах під впливом різних форм пригнічення сигнального протеїну ERN1, а також гіпоксії та дефіциту глутаміну і глюкози в залежності від опосередкованого ERN1 стресу ендоплазматичного ретикулума.

12. Загальний висновок

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР “Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліоми” за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною постановки і розв’язанням проблем, науковим та практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора

філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., № 44, а здобувачка заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія, за спеціальністю 091 - Біологія.

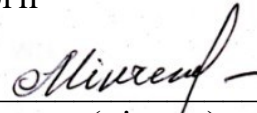
Науковий керівник:

д.б.н., професор, член-кор. НАН України,

завідувач відділу молекулярної біології

Інституту біохімії

ім. О.В. Палладіна НАН України



Олександр МІНЧЕНКО

(підпис)

21 січня 2025 р.

