

Голові спеціалізованої вченої ради
при Інституті біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
доктору біологічних наук,
старшому науковому співробітнику,
завідувачу відділу хімії та біохімії ферментів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України
Артему ТИХОМИРОВУ

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук,
члена-кореспондента НАН України, заступника директора з наукової
роботи Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
Богдана МОРГУНА
на дисертаційну роботу Мирослави СЛЮСАР
“Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у
клітинах гліоми”,
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

1. Актуальність обраної теми

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР є актуальною, оскільки присвячена вивченню молекулярних механізмів регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліобластоми лінії U87MG за умов пригнічення ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума, який є ключовим у підтриманні росту злоякісних пухлин. Наразі відсутні ефективні методи лікування гліобластом і тому існує необхідність пошуку принципово нових шляхів боротьби з ними. Добре відомо, що ріст гліобластом, як і інших злоякісних пухлин, обумовлений змінами в експресії великої кількості генів і тому з'ясування молекулярних механізмів регуляції процесів росту гліобластом сигнальними шляхами стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії є перспективним напрямком для вибору генів-мішеней для лікування гліобластом.

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

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР є органічною частиною експериментальних досліджень, які виконуються у відділі молекулярної

біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України протягом 2022–2025 рр. у рамках планових досліджень за бюджетною темою: “Молекулярні механізми взаємодії сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії в репрограмуванні геному клітин гліоми”, № державної реєстрації 0121U100662 (2021–2025 рр.).

3. Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації

Основні положення, висновки та практичні рекомендації дисертації Мирослави СЛЮСАР витікають із отриманих нею результатів експериментальних досліджень і є добре обґрунтованими. Вони опрацьовані різними методами статистичного аналізу та знайшли достатнє відображення у чотирьох статтях, які опубліковані у закордонних журналах, представлених у Scopus, WoS та PubMed.

4. Достовірність основних наукових положень, висновків і практичних досліджень та одержаних результатів

Достовірність основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій та одержаних результатів не викликає сумнівів, оскільки проведений Мирославою СЛЮСАР статистичний аналіз включав також визначення нормальності розподілу варіант у групах і перевірявся кількома методами, а основні наукові положення та висновки, як і практичні рекомендації, були зроблені на основі статистично достовірних результатів.

5. Новизна основних наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів

Наукова новизна наукових досліджень Мирослави СЛЮСАР і одержаних нею результатів, а також основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій полягає у виявленні змін рівня експресії генів синтезу і перетворення серину у клітинах гліобластоми лінії U87MG за різних умов пригнічення сигнального протеїну ERN1 стресу ендоплазматичного ретикулума. Вперше виявлена вагома роль ендорибонуклеазної активності ERN1 у регуляції експресії гена *ATF4* та протеїнкіназної активності цього

сигнального протеїну у контролюванні експресії генів *PHGDH*, *SHMT1* і *SHMT2*. Вперше встановлено, що гіпоксія по-різному змінює рівень експресії більшості досліджених генів та показана залежність гіпоксичної регуляції від пригнічення ензиматичних активностей ERN1. Вперше виявлено, що експресія більшості генів синтезу серину є чутливою до забезпечення їх глутаміном та глюкозою у клітинах гліобластоми та посилюється за пригнічення ERN1. Отримані результати мають вагомим наукове значення, оскільки вони спрямовані на вирішення актуальної наукової проблеми щодо молекулярних механізмів пригнічення проліферації клітин гліобластоми за умов інгібування протеїну ERN1 і обумовлене цим зниження рівня експресії генів синтезу серину.

6. Практичне значення одержаних результатів

Практичне значення одержаних Мирославою СЛЮСАР результатів полягає у встановленні ролі протеїнкіназної та ендорибонуклеазної активностей сигнального протеїну ERN1 у регуляції експресії генів, причетних до синтезу серину, пригнічення експресії яких асоціюється зі зниженням проліферації клітин гліобластоми і рівня експресії генів *PHGDH*, *PSAT1*, *PSPH*, *SHMT2* та *ATF4*, 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 ERN1-залежний характер чутливості клітин гліобластоми до гіпоксії є вагомим для розкриття механізмів розвитку резистентності пухлинних клітин до токсичних ефектів гіпоксії за стресу ендоплазматичного ретикулума, що важливо для розробки принципово нових способів до терапії гліобластом та інших злоякісних пухлин.

7. Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації у повній мірі відображені у чотирьох статтях, опублікованих Мирославою СЛЮСАР у закордонних журналах, які представлені у Scopus, PubMed та WoS, і у семи тезах доповідей, зроблених на престижних наукових конференціях та конгресі FEBS.

8. Структура дисертації

Дисертація викладена на 166 сторінках друкованого тексту і містить 53 рисунки та 4 таблиці. Вона має всі необхідні для дисертаційної роботи розділи – анотацію, вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень, обговорення результатів, висновки і список використаних джерел літератури. У вступі досить чітко відображена актуальність обраної теми досліджень, мета і завдання досліджень, методи досліджень, наукова новизна отриманих результатів і їх практичне значення, особистий внесок здобувачки, а також зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами, апробація отриманих результатів та публікації по темі виконаної дисертаційної роботи.

В огляді літератури детально проаналізовані сучасні наукові досягнення за темою дисертації на основі 205 джерел, у тому числі й успіхи у вивченні ролі інгібування ензиматичних активностей ERN1 у пригніченні росту гліобластоми. Крім того, обґрунтована актуальність теми та необхідність проведення досліджень, які направлені на детальне з'ясування молекулярних механізмів регуляції експресії генів синтезу серину, оскільки вони відіграють вагому роль у рості не лише гліобластом, а й інших злоякісних пухлин.

У розділі “Результати досліджень” представлені результати дослідження рівня експресії генів синтезу серину у клітинах гліобластоми у порівнянні з нормальними астроцитами, а також у клітинах гліобластоми з різними формами пригнічення активності ERN1. Показано, що рівень експресії різних генів синтезу серину змінювався по-різному у клітинах гліобластоми за умов пригнічення активності ERN1, а також залежав від типу нокдауну ERN1. Виявлена вагома роль ендорибонуклеазної активності ERN1 у регуляції експресії гена *ATF4*, а протеїнкіназної його активності у контролі експресії генів *PHGDH*, *SHMT1* і *SHMT2*. Представлені також результати впливу гіпоксії на рівень експресії генів синтезу серину, які продемонстрували залежність ефектів гіпоксії на рівень експресії цих генів від активності сигнального протеїну ERN1, оскільки нокдаун ERN1 різко посилював ефект гіпоксії на рівень експресії генів *PHGDH*, *PSAT1* і *ATF4*. Вперше показано, що експресія

генів синтезу серину є чутливою як до дефіциту глюкози, так і глутаміну, які є важливими факторами росту гліобластоми, і що пригнічення ензиматичних активностей ERN1 збільшує рівень експресії цих генів за дефіциту цих поживних речовин, а особливо глутаміну.

Варто відзначити, що результати, отримані Мирославою СЛЮСАР, у розділі “Обговорення результатів” ретельно проаналізовані та узагальнені у вигляді наглядних графіків.

Висновки сформульовані чітко, вони є конкретними і повністю віддзеркалюють основні результати всіх основних досліджень.

9. Недоліки дисертації щодо їх змісту та оформлення

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР містить всю необхідну для дисертації інформацію, написана та оформлена зразково. Вона добре вичитана і не містить помилок. Принципових недоліків у цій роботі не виявлено, але є декілька питань дискусійного характеру:

1. Ви показали, що ендорибонуклеазна активність ERN1 контролює рівень експресії гена ATF4 у клітинах гліобластоми, а яким механізмом?

2. Що відомо з літератури про роль ендорибонуклеазної активності ERN1 у контролі експресії генів?

3. Хотілося б почути Вашу думку з приводу механізмів контролю експресії генів протеїнкіназною активністю ERN1.

4. Чи відомі Вам гени, експресія яких контролюється протеїнкіназною активністю ERN1, окрім виявлених Вами *PHGDH*, *SHMT1* та *SHMT2*?

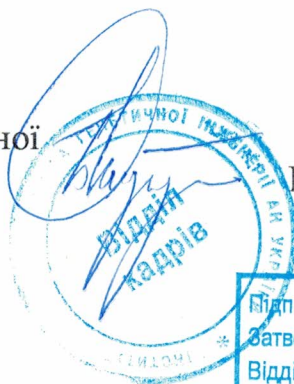
5. Ви використали два підходи до пригнічення ERN1: клітини з домінант-негативними конструкціями ERN1 і сайленсінг мРНК. Який підхід є кращим чи вони доповнюють один одного?

Висновок

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР “Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліоми” за своєю актуальністю, науково-теоретичним рівнем, науковою новизною і практичним значенням відповідає всім 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 їй ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

Доктор біологічних наук,
член-кореспондент НАН України,
заступник директора з наукової роботи
Інституту клітинної біології та генетичної
інженерії НАН України



Богдан МОРГУН

Підпис	Моргун Б.В.
Затверджую	Євдокімов Т.Р.
Відділ кадрів	а.м.