

ВІДГУК

на дисертаційну роботу **Галкіна Олега Валерійовича**
“Експресія генів протеаз у клітинах гліоми лінії U87
за умов пригнічення IRE1” на здобуття наукового ступеня кандидата
біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Актуальність вибраної теми дисертації. Пошуки шляхів пригнічення росту гліом є актуальним напрямком досліджень в біології та медицині, оскільки гліоми є найбільш агресивними пухлинами головного мозку, які тяжко піддаються лікуванню. Дисертація Олега Валерійовича Галкіна присвячена вивченню механізмів регуляції експресії генів низки протеаз, зокрема катепсинів та специфічних зо убіквітину протеаз, а також STC2 і HTRA1, за умов пригнічення IRE1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума, що, як відомо, супроводжується пригніченням проліферації пухлинних клітин та росту гліом із них. У зв'язку з цим, однією з актуальних проблем біохімічних і молекулярно-біологічних досліджень механізмів росту злоякісних пухлин є ідентифікація потенційних генів мішеней для можливого пригнічення росту гліом.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота Галкіна О.В. виконана у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України протягом 2015–2018 рр. у рамках проведення планових досліджень за бюджетними темами: “Молекулярні основи взаємодії генів в механізмах регуляції їх експресії”, № ДР 0111U002234 (2011-2015 р.р.); «Механізми регуляції внутрішньоклітинних сигнальних мереж, міжклітинних та міжмолекулярних взаємодій», № ДР 0112U002624 (2012–2016 рр.), «Роль стресу ендоплазматичного ретикулума у функціональній перебудові геному і пошук генів-мішеней для пригнічення росту гліом», № ДР 0116U001027 (2016–2020 рр.) та “Біохімічні механізми контролю системних міжклітинних взаємодій, регулювання сигнальних мереж та клітинних функцій за умов норми та патологічних станів”, ДР № 0117U004344 (2017-2021 р.р.).

Мета і задачі дослідження. Мета роботи полягала у вивченні рівня експресії генів специфічних до убіквітину протеаз та катепсинів у клітинах

гліоми лінії U87 з пригніченою активністю IRE1 за умов гіпоксії та дефіциту глутаміну і глюкози для з'ясування їх ролі в опосередкованому цим сигнальним ферментом контролі процесів проліферації клітин гліоми. Поставлені в роботі конкретні наукові завдання відповідають меті і повністю виконані.

Робота виконана на сучасному методичному рівні з використанням методів біохімії та молекулярної біології.

Наукова новизна одержаних результатів. Олег Валерійович вперше показав, що рівень експресії генів основних ферментів, що контролюють відщеплення убіквітину, а також катепсинів, змінюється у клітинах гліоми за умов пригнічення IRE1, який опосередковує основний сигнальний шлях стресу ендоплазматичного ретикулума. Встановлено, що гіпоксія знижує рівень експресії генів *USP1*, *USP10*, *USP14*, *CTSC*, *CTSL*, *CTSO* та *CTSS*, тоді як інших генів – підвищує у контрольних клітинах гліоми і що пригнічення функції сигнального ферменту IRE1 у цих клітинах змінює ефект гіпоксії на експресію більшості досліджених генів. Показано, що дефіцит глутаміну та глюкози впливає на рівень експресії генів *USP* та *CTS*, а також гена *HTRAI* у клітинах гліоми і що цей вплив істотно залежить від активності сигнального ферменту IRE1. Отримані дані розкривають молекулярні механізми IRE1-опосередкованої регуляції проліферації пухлинних клітин через зміни в експресії генів протеаз за умов пригнічення IRE1, а також через опосередковані цим сигнальним ферментом зміни в чутливості експресії генів протеаз до гіпоксії, дефіциту глюкози та глутаміну.

Практичне значення роботи полягає у в'ясненні можливих молекулярних механізмів пригнічення проліферації клітин гліоми і росту із них пухлин за умов пригнічення IRE1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума. Це є необхідною умовою розробки нових способів боротьби з гліомами на основі виявлених генів-мішеней із врахуванням їх залежності від гіпоксії, дефіциту глутаміну та глюкози. Результати були також використані в лекціях для магістрів КНУ імені Тараса Шевченка.

Структура та обсяг дисертації. Ця дисертаційна робота викладена на 150 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, огляду літератури,

матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел (187 найменування). Робота містить 9 таблиць і 51 рисунок.

В літературному огляді, який складається із 7 підрозділів, Олег Валерійович проаналізував великий об'єм нових публікацій, переважно закордонних авторів, які мають безпосереднє відношення до теми дисертації і відображають стан проблеми на сьогодні.

В розділі “Матеріали та методи досліджень” автор детально описує умови проведення експериментів та основні методи досліджень, які є сучасними і відносяться до біохімії та молекулярної біології.

Розділ “Результати досліджень” включає сім підрозділів, присвячених дослідженню рівня експресії різних груп генів за умов пригнічення сигнального ензиму IRE1, а також дії гіпоксії та дефіциту глутаміну і глюкози в залежності від активності сигнального шляху IRE1. Результати добре систематизовані, викладені логічно, опрацьовані статистично. Вони представлені на 51 рисунку і в 9 таблицях, детально описані.

Отримані результати ретельно проаналізовані й проведено їх обговорення в розділі «Обговорення результатів». Цей розділ має 4 підрозділи, в кожному із них розглядаються можливі механізми дії на експресію генів різних протеаз одного із досліджених чинників: пригнічення стресу ендоплазматичного ретикулума, опосередкованого IRE1, гіпоксія та дефіцит глутаміну і глюкози, причому як за умов функціонально активного IRE1, так і за умов його пригнічення.

Варто відмітити, що дисертаційна робота О.В. Галкіна містить два узагальнюючі рисунки з акцентом на основні результати, отримані автором в його дослідженнях.

Дисертаційна робота закінчується чіткими і конкретними висновками. Зроблені автором п'ять висновків повністю відображають основні результати його дисертаційної роботи.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. За отриманими результатами опубліковано 12 робіт, із них 7 статей в іноземних журналах та вітчизняних фахових наукових виданнях, що

входять до переліку, затвердженого ДАК України, причому деякі із них представлені в Scopus (3), PubMed (1) та Web of Science (1), і 5 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових форумів.

Дисертаційна робота Олега Валерійовича заслуговує на позитивну оцінку, але в процесі роботи над дисертацією виникли деякі дискусійні питання:

1. Як Ви вважаєте, які із протеаз є важливими для росту злоякісних пухлин, у тому числі гліом?
2. Яка мета досліджень з дефіцитом глутаміну? Наскільки і чому глутамін є важливим для клітин гліоми?
3. Для нормальних клітин тривалий стрес ендоплазматичного ретикулума є негативним чинником, а для пухлин є необхідним для їх росту, чому?
4. Що відомо про субклітинну локалізацію катепсинів і їх функціональне значення поза лізосомами?
5. В огляді літератури немає публікацій робіт за 2017 і 2018 роки.

Наведені вище питання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, оскільки вони стосуються переважно інтерпретації результатів.

Загальний висновок. Враховуючи актуальність теми та наукову новизну одержаних даних, а також наукове і практичне їх значення, високий методичний рівень проведених автором досліджень та інші позитивні якості дисертаційної роботи Галкіна Олега Валерійовича, вважаю, що вона відповідає вимогам “Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013, № 567, а автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Завідувач відділу генетики мікроорганізмів
Інституту мікробіології та вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України,
член-кореспондент НАН України,
доктор біологічних наук, професор



Мацелюх Б.П.

ПІДПИС
ПОСВІАЧУЄТЬСЯ
ЗАБ.КАНЦЕЛЯРІЇ
Д.В.МАНАРЕЦЬ