

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу *Гармаш Яни Анатоліївни* на тему «Роль сигнального шляху ERN1 в регуляції експресії генів, що кодують синтез ензимів гліколізу та пентозофосфатного шунта», представленої в спеціалізовану вчену раду Д 26.240.01 Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Актуальність теми. Пошуки шляхів і механізмів пригнічення росту злоякісних пухлин, особливо гліом, які вражають центральну нервову систему та тяжко піддаються лікуванню, займають важливе місце в біохімічних і молекулярних дослідженнях. Тому вивчення ролі важливих для росту гліом систем гліколізу та пентозофосфатного шунта з метою виключення сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума ERN1, яке супроводжується пригніченням проліферації пухлинних клітин і гліомного росту, та ідентифікація генів і протеїнів - потенційних мішеней для пригнічення пухлин, слід вважати актуальними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами установи, де виконувалась дисертація. Ця дисертаційна робота виконана протягом 2012–2018 рр. у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України у рамках проведення планових досліджень за бюджетними темами: «Молекулярні основи взаємодії генів в механізмах регуляції їх експресії», № ДР 0111U002234 (2011–2015 рр.), «Механізми регуляції внутрішньоклітинних сигнальних мереж, міжклітинних та міжмолекулярних взаємодій», № ДР 0112U002624 (2012–2016 рр.) та «Роль стресу ендоплазматичного ретикулума у функціональній перебудові геному і пошук генів-мішеней для пригнічення росту гліом», № ДР 0116U001027 (2016–2020 рр.) та на кафедрі біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України в рамках науково-дослідної теми «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» № ДР 0111U004648 (2011-2015 рр.).

Мета і задачі дослідження. Мета дисертаційної роботи сформульована чітко: вивчити рівень експресії генів ензимів гліколізу та пентозофосфатного шунта у клітинах гліоми лінії U87 з повним або частковим пригніченням функціональної активності ERN1 за умов гіпоксії та дефіциту глюкози і глутаміну для з'ясування їх ролі в опосередкованому ERN1 контролі процесів проліферації клітин гліоми. А конкретні завдання, поставлені в роботі, в повній мірі відповідають меті.

Стосовно **наукової новизни одержаних результатів**, то автором вперше продемонстровано те, що рівень експресії генів *GPI*, *ALDOA* і *ALDOC*, *ENO1* і *ENO2*, та *GNPDA1* таких ензимів гліколізу істотно змінюється у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення ERN1 («протеїну 1» шляху сигналювання від ендоплазматичного ретикулума до ядра), який опосередковує основний сигнальний шлях стресу ендоплазматичного ретикулума. Теж саме відноситься і до генів *G6PD*, *PGLS*, *RPIA*, *TKT*, *TALDO1*, *PRPS1* і *PRPS2*, *PRPSAP1* і *PRPSAP2*, які кодують ензими пентозофосфатного шляху, що вказує на їх важливу роль у злоякісному рості, зокрема гліом. Було також встановлено, що зміни в експресії досліджених генів опосередковані як ендорибонуклеазною, так і протеїнкіназною активностями ERN1. Вперше виявлена залежність рівня експресії **більшості цих генів від гіпоксії і показана роль ERN1 у гіпоксичній регуляції їх експресії**. Встановлено, що відсутність глутаміну або глюкози у середовищі змінює рівень експресії більшості

Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна
НАН України
13 ЛИС 2018
Вх. № 74/03-07/Ксв

досліджених генів, що кодують синтез ензимів гліколізу та пентозофосфатного шунта, у клітинах гліоми, а також, що ці зміни переважно залежать від функціональної активності сигнального шляху ERN1, а це узгоджується зі знизеним проліферативним потенціалом клітин гліоми без функціонально активного ERN1.

Практичне значення роботи полягає у в'ясненні можливих молекулярних механізмів пригнічення проліферації клітин гліоми і росту із них пухлин за умов пригнічення ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулума, що є необхідною умовою розробки нових підходів до боротьби з гліомами на основі виявлених генів-мішеней, зокрема *ALDOC*, *ENO2* та *PRPS1*, з врахуванням їх залежності як від гіпоксії, так і від дефіциту глутаміну та глюкози.

Апробацію одержаних результатів проведено на достатньому рівні. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 15 робіт, із них 8 статей (7 експериментальних і 1 оглядова) в іноземних та українських фахових наукових виданнях, що входять до переліку, затвердженого ДАК України, і 7 тез доповідей у матеріалах міжнародних та українських наукових форумів, конгресів і конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Ця дисертаційна робота викладена на 152 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел (221 найменування). Робота містить 8 таблиць і 50 рисунків.

Автором використані методи досліджень: культивування клітин гліоми, молекулярно-біологічні (виділення РНК, синтез комплементарних ДНК методом зворотної транскрипції, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та ПЛР у реальному часі), фізико-хімічні та біохімічні (спектрофотометричне визначення концентрації нуклеїнових кислот, електрофоретичний аналіз продуктів ампліфікації, електрофоретичне розділення цитозольних фракцій протеїнів, вестерн-блот аналіз протеїнів, визначення концентрації протеїнів, імуноблотинг) та комп'ютерний аналіз результатів кількісної ПЛР і статистичні методи обробки даних

Отримані результати досліджень заслуговують високої оцінки і мають елементи новизни, фундаментальне та науково-практичне значення. Вони достатньо висвітлені в наукових виданнях, а також апробовані на багатьох репрезентативних наукових форумах. А, найголовніше, вони дозволили зробити ряд важливих для теорії і практики висновків, які виділено на окремих сторінках.

Поряд з наведеними позитивними сторонами дисертаційної роботи і автореферату, на мій погляд, необхідно з'ясувати деякі дискусійні **питання** та виділити наступні **побажання й зауваження**:

1. Які особливі якості є властиві для сенсорно-сигнального ензиму ERN1?
2. Чому за умов пригнічення функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1 у клітинах гліоми лінії U87 рівень експресії генів *GPI*, *ENO1*, *ENO2*, *ALDOA* збільшується? Який рівень експресії гена *ALDOC* за таких умов і чому?
3. Автор часто використовує кальку англійських термінів (наприклад, «ензиматична активність», «фолдинг протеїнів», «тотальна РНК» і т.п.), які краще було вживати як: «ензимна активність», «просторова укладка протеїнів або згортання протеїнів», «сумарна РНК» і т.д.

Вищенаведені питання і побажання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, адже вони стосуються переважно її оформлення та інтерпретації результатів.

Загальний висновок

Дисертаційна робота *Гармаш Яни Анатоліївни*, присвячена дослідженню ролі сигнального шляху ERN1 в регуляції експресії генів, що кодують синтез ензимів гліколізу та пентозофосфатного шунта, є цілісною, закінченою науковою працею. Вона відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висуваються до кандидатських дисертацій, а *Гармаш Яна Анатоліївна* заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія

Доктор біологічних наук,
професор кафедри біохімії і фізіології тварин
Національного університету біоресурсів
і природокористування України



Л. Г. Калачнюк

