

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника, завідувача
відділу молекулярної генетики Інституту молекулярної біології і генетики
НАН України

ТЕЛЕГЄЄВА ГЕННАДІЯ ДМИТРОВИЧА

на дисертаційну роботу молодшого наукового співробітника
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

ХІТИ ОЛЕНИ ОЛЕКСАНДРІВНИ

“Механізми регуляції експресії генів мітохондріальних протеїнів у клітинах
гліоми за умов пригнічення IRE1” представлену до захисту у спеціалізовану
вчену раду ДФ 26.240.001

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,
утворену наказом МОН від 09.11.20 №1392

для розгляду та проведення разового захисту дисертації
на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації. Вивчення біохімічних та молекулярних механізмів злоякісного росту, зокрема на рівні експресії генів, є актуальним напрямком сьогодення. Відомо, що онкологічні патології займають друге місце за рівнем захворюваності і смертності в світі, а найбільш поширеними первинними пухлинами центральної нервової системи є гліоми. Їхня стійкість до терапії та високоагресивна поведінка, відсутність ефективних терапевтичних стратегій та чіткого розуміння молекулярних механізмів патогенезу цих пухлин переконливо свідчать про нагальну потребу пошуку нових терапевтичних мішеней та вивчення механізмів пригнічення росту злоякісних пухлин.

Дисертаційна робота Хіти Олени Олександрівни «Механізми регуляції експресії генів мітохондріальних протеїнів у клітинах гліоми за умов пригнічення IRE1» присвячена вивченню молекулярних механізмів регуляції ядерних генів, що кодують локалізовані в мітохондріях ключові ензими циклу трикарбонових кислот та фактори, що контролюють процеси транскрипції і

трансляції у мітохондріях, а також регулюють біоенергетику, проліферацію та апоптоз, і які можуть бути потенційними мішенями анти-пухлинної терапії.

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

Дисертаційна робота Олени Олександрівни виконана протягом 2016-2019 рр. у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України у рамках проведення планових досліджень за бюджетними темами: «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 0117U002624 (2017–2021 рр.), підрозділ теми «Роль ендоплазматичного ретикулума та мітохондрій у молекулярних механізмах інтегральної регуляції процесів проліферації».

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації. Наукові положення та висновки, наведені в дисертації Олени Олександрівни, є достовірними, що підтверджується використанням великого обсягу фактажу, логічністю постановки завдань, статистичним аналізом та узагальненням отриманих даних.

Результати, викладені в дисертаційному дослідженні, є логічними, добре систематизованими та обґрунтованими.

У висновках повністю відображені основні результати цієї дисертаційної роботи.

Наукова новизна одержаних результатів. У своїй дисертаційній роботі Олена Олександрівна *вперше* продемонструвала гено-специфічну залежність експресії ядерних генів *ME2, MDH2, GOT2, IDH2, SHDB, SDHD, POLG, MTIF2, TSFM, ENDOG, NR3C1, NNT, FAM162A, LONP1, AIFM1, TRADD* та *ATG7*, що кодують функціонально різні протеїни мітохондрій, від стресу ендоплазматичного ретикулума, а саме від функціонування сенсорно-сигнальної молекули IRE1, ключового медіатора відповіді на не згорнуті протеїни. Встановлено, що стрес-залежна регуляція цих генів може здійснюватися як через протеїнкіназу, так і ендорибонуклеазну активність

IRE1, а у деяких випадках ще й за участі інших шляхів стресу ендоплазматичного ретикулула. Виявлено, що експресія більшості досліджених генів є залежною від гіпоксії, а пригнічення функціональної активності IRE1 переважно модифікує ефект гіпоксії на експресію цих генів. Продемонстровано наявність різної чутливості експресії досліджених генів мітохондріальних протеїнів до умов дефіциту глюкози або глутаміну у клітинах гліоми, а також її залежність від функціональної активності IRE1-залежного шляху стресу ендоплазматичного ретикулула.

Біоінформаційними методами в промоторних ділянках проаналізованих генів виявлені сайти зв'язування транскрипційних факторів HIF та XBP1, що вказує на можливість залежності ефектів гіпоксії на експресію генів на транскрипційному рівні від IRE1-сигналювання, опосередкованого XBP1. Більше того, в 3'-ділянках деяких із досліджених мРНК виявлені сайти зв'язування мікроРНК, а проведене визначення рівня експресії мікроРНК переконливо свідчить про можливість регуляції експресії досліджених мРНК й на пост-транскрипційному рівні.

Отримані в дисертаційній роботі Хіти О.О. результати переконливо свідчать про IRE1-залежне репрограмування функціонального стану мітохондрій, що підтверджується виявленими нею різноспрямованими змінами експресії ядерних генів, які кодують полі-функціональні мітохондріальні фактори та ензими, та вказує на можливу участь цих генів у пригніченні проліферації пухлинних клітин, опосередкованому зниженою активністю IRE1.

Робота має практичне значення, що полягає у з'ясуванні молекулярних механізмів, які лежать в основі зниження інтенсивності проліферації клітин гліоми, опосередкованого пригніченням сигнального ензиму IRE1, ключового медіатора відповіді на неправильно згорнуті протеїни і що необхідно для створення нових протипухлинних препаратів системної терапії гліом, зокрема на основі ідентифікованих нами потенційних генів-мішеней *IDH2*, *ENDOG*, *NR3C1* та *NNT*, з урахуванням чутливості експресії цих генів до важливих факторів пухлинного мікрооточення: гіпоксії, дефіциту глюкози та глутаміну. Отримані результати були використані у лекціях по

спецкурсам “Конструювання генів” для магістрів КНУ імені Тараса Шевченка та “механізми онкогенезу” для магістрів Національного університету “Києво-Могилянська академія”, а також в курсі лекцій для аспірантів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Висвітлення результатів у наукових публікаціях. За матеріалами дисертації опубліковано 29 робіт, із них 13 статей у іноземних та вітчизняних наукових фахових виданнях, що входять до переліку, затвердженого ДАК України, і 16 тез доповідей у матеріалах міжнародних та вітчизняних конференцій і конгресів, включаючи IUBMB, FEBS та Parnas Conference. 10 із опублікованих статей представлені в базах даних Scopus, PubMed і Web of Science.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності. У дисертаційній роботі відсутні порушення академічної доброчесності. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи. Дисертація виконана з дотриманням усіх біоетичних вимог (протокол №3 засідання комісії з біоетики і біобезпеки Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України від 14 січня 2020 р.).

Оцінка змісту дисертації, її завершеності та відповідності встановленим вимогам.

За результатами аналізу дисертаційної роботи Олени Олександрівни зроблено висновок, що отримані нею наукові положення та висновки є достатньо обґрунтованими.

Структура дисертації логічно побудована, що сприяє розкриттю змісту теми дослідження і виконанню поставлених завдань. Ця дисертаційна робота викладена на 175 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, анотації, огляду літератури, опису матеріалів та методів, результатів досліджень, їх обговорення, висновків та списку використаних літературних джерел, що включає 255 посилань. Робота містить 57 рисунків та 8 таблиць.

В літературному огляді Олена Олександрівна проаналізувала досить велику кількість нових публікацій, переважно закордонних, які мають безпосереднє відношення до теми дисертації і висвітлюють сучасний стан проблеми. Зокрема, в ньому представлено сучасні відомості про молекулярні механізми стрес-залежного репрограмування функціональної активності мітохондрій у пухлинних клітинах. Проаналізована роль ядерних генів ензимів і факторів мітохондрій у контролі проліферації та росту злоякісних пухлин. Висвітлено молекулярні основи синтезу і транспорту протеїнів до різних структур мітохондрій.

Особлива увага приділена значенню таких ключових факторів пухлинного мікрооточення, як гіпоксія, дефіцит глюкози або глутаміну, у адаптації та виживанні пухлинних клітин, а також у функціонуванні мітохондрій за онкогенної трансформації. Окремий підрозділ присвячено системам стресу ендоплазматичному ретикулума та їх ролі у рості пухлин, а також сигнальному протеїну IRE1, що є важливим регулятором проліферації та метаболічного репрограмування клітин гліоми.

У розділі «Обговорення результатів» зроблений детальний аналіз отриманих результатів і проведено їх обговорення.

Дисертаційна робота Олени Олександрівни заслуговує на позитивну оцінку, але в процесі роботи над дисертацією виникли деякі **дискусійні питання та побажання:**

1. Ви показали, що протеїнкіназна активність сигнального протеїну IRE1 може контролювати експресію генів, це принципово новий результат, а яким чином?
2. Ви показали, що ендорибонуклеазна активність IRE1 може впливати на гіпоксичну регуляцію експресії генів через фактор XBP1, а чи може це відбуватися і через протеїнкіназну активність IRE1?
3. Яким чином змінюється активність транскрипційного фактора HIF у пухлинах та за гіпоксії і які ви знаєте механізми пост-транскрипційної регуляції його активності?

