

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 **Юлії КУЛШ**

«Вплив вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних
факторів та мікроРНК», 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

Юлія КУЛШ зарахована до аспірантури з відривом від виробництва зі спеціальності «091 Біологія» Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (Інституту) з 01 листопада 2021 року (Наказ № 12-а від 08.10.2021 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 18.01.2022 р. (Протокол № 1) затверджений індивідуальний план наукової роботи та тема дисертації «Вплив вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів та мікроРНК». Звітування щодо виконання індивідуального плану ОНП підготовки доктора філософії подавалося щороку згідно строків (1-й рік – 13.10.2022 р.; 2-й рік – 31.10.2023 р.; 3-й рік – 21.10.2024). Всі блоки ОНП, обов'язкові дисципліни та дисципліни за вибором здобувача і вибором Інституту, Юлією КУЛШ 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 Юлія КУЛШ 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, комплексний іспит зі спеціальності, організація підготовки дисертації, педагогіка вищої школи, асистентська педагогічна практика були успішно завершені та складені на «відмінно» (90-99 балів за шкалою закладу освіти), а іноземна мова за професійним спрямуванням на «добре» (88 балів). Також на «відмінно» були складені дисципліни вибору Інституту (93 і 98 балів) і дисципліни вільного вибору аспіранта (95-100 балів), а три дисципліни вільного вибору на «добре» (75, 82 і 82 бали). 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 5 статті в іноземних фахових наукових виданнях, представлених в базах Scopus та PubMed, і 9 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. Юлія КУЛШ 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

Юлія КУЛШ у 2021 році закінчила Національний університет «Києво-Могилянська академія» 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: Юлія КУЛШ детально ознайомила із сучасними досягненнями у вивченні молекулярних механізмів впливу вуглецевих та інших наночастинок на експресію генів та ролі стресу ендоплазматичного ретикулула в їх дії, що знайшло відображення в розділі дисертаційної роботи “Огляд літератури”. Вона також ознайомила 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: Юлія КУЛШ успішно освоїла сучасні методи біохімії та молекулярної біології, які вважала необхідними для виконання конкретних завдань своєї дисертаційної роботи, а у процесі роботи висовувала 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: Юлія КУЛШ постійно аналізувала отримані результати, висовувала 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 дії наночастинок на функцію геному.

Комунікація 1: Юлія КУЛШ вільно спілкується з питань механізмів дії різних наночастинок на експресії генів, у тому числі і на мікроРНК, гено- і нейро-токсичності, неодноразово представляла результати своїх досліджень на вітчизняних і міжнародних наукових форумах.

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: Юлія КУЛШ користується повагою і авторитетом серед колег, здатна самостійно ставити та виконувати наукові задачі. Для неї характерна доброчесність, послідовна відданість формуванню 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 Юлії КУЛІШ сформульована наступним чином: «Вплив вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів та мікроРНК». Численні наукові публікації присвячені дослідженню механізмів дії наночастинок і їх можливого використання у біології та медицині свідчать про їх негативні ефекти на клітини і живі організми. Саме тому, з'ясування молекулярних механізмів розвитку негативних побічних ефектів, особливо на нормальні клітини, вивчення ролі ключових транскрипційних факторів та інших регуляторів і механізмів їх контролю сигнальними шляхами стресу ендоплазматичного ретикулума є дуже важливим та перспективним напрямком пошуку нових підходів до попередження розвитку негативних ефектів наночастинок при їх застосуванні у терапевтичних та діагностичних цілях. Деякі із досліджених у цій роботі транскрипційних факторів і мікроРНК можуть бути використані як маркери негативної дії вуглецевих наночастинок.

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 було встановлено, що в культурі нормальних астроцитів людини лінії NHA/TS за умов дії на них дуже малих доз оксиду графену спостерігаються виражені зміни рівня експресії важливих транскрипційних факторів та низки регуляторних протеїнів і мікроРНК. У той же час, у клітинах гліобластоми були виявлені менш виражені зміни рівня експресії важливих транскрипційних факторів та регуляторних протеїнів і мікроРНК під впливом оксиду графену (GrO). Аналогічні зміни в експресії досліджених генів спостерігалися і за дії одностінних вуглецевих нанотрубок (SWCNTs) як у нормальних астроцитах, так і у клітинах

зменшена чутливість клітин гліобластоми до їх дії може бути обумовлена полі-резистентністю пухлинних клітин із-за наявного у них стресу ендоплазматичного ретикулула.

7. Наукове та практичне значення дослідження

Отримані результати мають важливе наукове значення, оскільки була вирішена актуальна наукова проблема щодо більш вираженого порушення експресії генів важливих транскрипційних факторів та регуляторних протеїнів у нормальних астроцитах порівняно з клітинами гліобластоми за дії на них вуглецевих наночастинок. Практичне значення отриманих результатів полягає у виявленні більш високої чутливості нормальних клітин організму, а саме нормальних астроцитів людини лінії NHA/TS, порівняно з пухлинними клітинами, зокрема клітинами гліобластоми лінії U87MG, до дії на них наночастинок оксиду графену та SWCNTs, яку оцінювали по рівню експресії генів транскрипційних і регуляторних факторів. Цей результат є дуже важливим застереженням до використання різних вуглецевих наночастинок у біології і медицині, у тому числі при діагностиці та лікуванні онкологічних захворювань, без детального вивчення можливого їх негативного впливу на різні нормальні клітини організму, на функціональну активність геному в них. Виявлені нами зміни рівня експресії генів низки транскрипційних факторів і регуляторних протеїнів під впливом наночастинок оксиду графену та SWCNTs є підґрунтям для ідентифікації високочутливих генетичних маркерів метаболічних порушень, що є вкрай цінним для ранньої діагностики порушень головного мозку, які становлять серйозні ризики для здоров'я та життя пацієнтів і лікування яких пов'язане з різними побічними ефектами.

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

гліобластоми, причому у нормальних клітинах зміни в експресії генів були також більш вираженими. Вперше було показано, що дія наночастинок оксиду графену та вуглецевих нанотрубок на експресію різних генів переважно опосередковується стресом ендоплазматичного ретикулула, оскільки за умов пригнічення ERN1, головного сигнального шляху цього стресу, ефект як наночастинок оксиду графену, так і SWCNTs, різко зменшувався. Отримані результати продемонстрували важливу роль ензиматичної активності ERN1 у регуляції експресії генів як важливих, стрес-залежних транскрипційних факторів (*DDIT3*, *ATF3*, *ATF4*, *E2F1* та *TP53*), так і вагомих регуляторних факторів та ензимів (*DNAJB9*, *HBEGF*, *TOB1*, *EDEM1*, *DDX58*, *P4HA2*, *TFPI2* і *IDH2*). Вперше показано, що наночастинок оксиду графену впливають на рівень експресії мікроРНК, які є важливими регуляторами експресії генів *HBEGF*, *TOB1* та *TP53* на пост-транскрипційному рівні за рахунок наявності в їх мРНК специфічних сайтів зв'язування, оскільки збільшення рівня мРНК *HBEGF* і *TOB1* узгоджувалося зі зниженням рівня експресії специфічної до них мікроРНК *miR-182-5p*, а зменшення рівня експресії мРНК *TP53* – з підвищенням *miR-98-5p*.

Встановлено, що тривала експозиція ембріонів *Danio rerio* за присутності одностінних вуглецевих нанотрубок порушує експресію мікроРНК *miR-19a-3p*, *miR-21-5p* і *miR-96-5p*, які контролюють проліферацію клітин та процеси нейрогенезу, причому це може ініціювати порушення нормального розвитку головного мозку ембріонів.

Вперше показано, що нормальні астроцити на рівні експресії генів ключових транскрипційних факторів і стрес-залежних протеїнів є більш чутливими до дії наночастинок оксиду графену та одностінних вуглецевих нанотрубок порівняно з клітинами гліобластоми. Так, під впливом наночастинок оксиду графену і одностінних вуглецевих нанотрубок рівень експресії генів *DDIT3*, *ATF3* та *DNAJB9* змінюється у нормальних астроцитах більш виражено порівняно з клітинами гліобластоми як за дії менших, так і більших доз цих вуглецевих наночастинок, причому

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 165 сторінках друкованого тексту, основна частина складається із вступу, чотирьох розділів (огляд літератури, матеріали та методи, результати досліджень і обговорення результатів) та висновків. Робота містить 57 рисунки і 4 таблиці, список використаних літературних джерел включає 202 посилання. Робота є завершеною та відповідає всім установленим вимогам щодо оформлення.

10. Дотримання принципів академічної доброчесності

Дисертаційна робота здобувачки Юлії КУЛІШ 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 ретельного вивчення впливу вуглецевих наночастинок на геном не лише пухлинних клітин, а і нормальних астроцитів та інших нормальних клітин організму”, оскільки в її наукових публікаціях чітко продемонстровані більш виражені порушення в

експресії мРНК транскрипційних і регуляторних факторів, а також мікроРНК у нормальних астроцитах порівняно з клітинами гліобластоми.

12. Загальний висновок

Дисертаційна робота Юлії КУЛІШ «Вплив вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів та мікроРНК» за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною постановки і розв'язанням проблеми, 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.

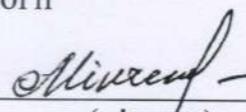
Науковий керівник:

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

завідувач відділу молекулярної біології

Інституту біохімії

ім. О.В. Палладіна НАН України


(підпис)

Олександр МІНЧЕНКО

15 квітня 2025 р.

