

РЕЦЕНЗІЯ
на дисертаційну роботу Мирослави СЛЮСАР
**“МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ
СИНТЕЗУ СЕРИНУ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ”**
представлену на здобуття наукового ступеня
доктора філософії
у галузі знань 09 – Біологія,
за спеціальністю 091 – Біологія

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР є дійсно актуальним дослідженням, оскільки присвячена вивченню молекулярних механізмів регуляції експресії генів, відповідальних за синтез та метаболізм серину, які відіграють важливу роль у рості злоякісних пухлин, у тому числі і гліобластом. Основний акцент цієї роботи був зосереджений на вивченні ролі стресу ендоплазматичного ретикулума у механізмах регуляції експресії цих генів, їх залежності від функціональної активності сигнального протеїну ERN1, його протеїнкіназної та ендорибонуклеазної активностей для вивчення молекулярних механізмів зниження інтенсивності проліферації клітин гліобластоми за умов нокдауну ERN1.

Добре відомо, що гліобластоми є найбільш розповсюдженими первинними пухлинами головного мозку з високою агресивністю та стійкістю до різних форм терапії, а тому створення нових стратегій боротьби з цими злоякісними пухлинами є актуальним. У цьому плані, важливими є дослідження по вивченню молекулярних механізмів патогенезу гліобластом для покращення існуючих і створення нових перспективних стратегій протипухлинної терапії. Відомо також, що стрес ендоплазматичного ретикулума та гіпоксія є надзвичайно важливими факторами інтенсивного росту злоякісних пухлин, оскільки вони ініціюють специфічні зміни на рівні геному для активації ангиогенезу, посиленого забезпечення пухлини поживними речовинами і резистентності пухлинних клітин до різних токсичних речовин. Саме тому детальне вивчення регуляторних механізмів, які лежать в основі цих процесів може сприяти не лише кращому розумінню молекулярних механізмів росту злоякісних пухлин, а і пошуку нових підходів до боротьби з

ними. Все це свідчить про важливість та доцільність досліджень, обраних дисертанткою.

В зробленому Мирославою огляді літератури наведені і детально проаналізовані нові дані щодо сучасних уявлень про роль стресу ендоплазматичного ретикулума у контролі обміну речовин та процесів проліферації в нормі і за пухлинного росту. Вона опрацювала результати великої кількості досліджень провідних спеціалістів світу. Ці публікації не лише мають безпосереднє відношення до теми дисертації, а і розкривають сучасний стан досліджень по обраній темі.

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР виконана на сучасному методичному рівні. В ній використовуються методи біохімії та молекулярної біології: культивування стабільно трансфікованих клітин гліобластоми з різними видами нокдауну ERN1, виділення РНК, визначення концентрації та спектральних характеристик отриманих препаратів РНК за допомогою нано-спектрофотометра, синтез комплементарних ДНК, а також методи кількісної полімеразної ланцюгової реакції, сайленсінг мРНК, електрофоретичний аналіз нуклеїнових кислот, методи біоінформатики та статистичної обробки результатів.

В роботі було досліджено вплив пригнічення сигнального протеїну ERN1 у клітинах гліобластоми на рівень експресії генів синтезу і метаболізму серину, а також вплив гіпоксії та дефіциту глутаміну або глюкози на рівень експресії цих генів у клітинах гліобластоми в залежності від різних видів пригнічення ензиматичних активностей протеїну ERN1. Було встановлено, що пригнічення ERN1 по-різному змінює рівень експресії досліджених генів, причому різними механізмами і що не лише ендорибонуклеаза, а і протеїнкіназна активність сигнального протеїну ERN1 є важливим регулятором експресії генів. Виявлено, що зниження рівня експресії гена *ATF4* за умов пригнічення ERN1 опосередковано ендорибонуклеазною активністю цього сигнального протеїну, а генів *PHGDH*, *SHMT1* і *SHMT2* – його протеїнкіназною активністю. Вестерн блот-аналіз протеїнів PSAT1, PSPH і ATF4 показав зниження їх рівня у

клітинах гліобластоми з нокдауном ERN1, що узгоджується із змінами рівня експресії відповідних мРНК.

Встановлено, що гіпоксія змінює рівень експресії всіх досліджених генів і що гіпоксична регуляція їх експресії істотно залежить від ERN1. Рівень експресії більшості досліджених генів синтезу та метаболізму серину є чутливим до дефіциту як глюкози, так і глутаміну, але по-різному і також залежить від нокдауну ERN1.

Важливим є дослідження проліферативного потенціалу клітин гліобластоми з пригніченими ензиматичними активностями ERN1, які показали зниження їх проліферації, особливо за пригнічення лише ендорибонуклеазної активності ERN1.

Наукова новизна цієї дисертаційної роботи у виявленні змін рівня експресії генів, що контролюють синтез і метаболізм серину, у культурі клітин гліобластоми за умов пригнічення ERN1 та встановленні ролі протеїнкіназної активності ERN1 у регуляції експресії генів. Ці результати мають важливе практичне значення, оскільки пригнічення експресії генів, відповідальних за синтез і метаболізм серину, причетне до зниження проліферативного потенціалу клітин гліобластоми. Більше того, були ідентифіковані мікроРНК, які контролюють експресію мРНК PSAT1, PSPH та SHMT1 на пост-трансляційному рівні, які можуть бути потенційними мішенями для пригнічення проліферації клітин гліобластоми.

Результати досліджень, які викладені в дисертації Мирослави СЛЮСАР опубліковані у відкритому друку фахових видань у вигляді 15 робіт, з них 4 статті в іноземних фахових наукових виданнях, які представлені в базах Scopus, PubMed і Web of Science, та 11 тез доповідей у матеріалах закордонних та міжнародних наукових конференцій і конгресах.

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

Побудова і написання дисертації повністю відповідають вимогам ДАК. Основний науково-експериментальний матеріал викладено на 166 ст.,

ілюстровано 53 рисунками та 4 таблицями. Список цитованої літератури нараховує 201 посилання.

Хочу відмітити, що дуже добре прикрасили роботу схеми наведені на рис. 4.1.1 – 4.1.5, які добре узагальнюють отримані результати.

Слід зазначити, що дисертація написана дуже грамотно не лише з наукової, але й з орфографічної та стилістичної точки зору. При знайомстві з матеріалами дисертації виникають певні питання та побажання, які варто було б врахувати у майбутній експериментальній роботі.

Запитання:

1. Вами встановлено, що експресія гена *ATF4* контролюється ендорибонуклеазною активністю ERN1, а яким чином і на якому рівні це реалізується?

2. Ви дослідили гіпоксичну регуляцію експресії генів і показали її залежність від нокдауну сигнального протеїну ERN1. Який механізм цієї залежності?

3. Вами виявлено, що експресія генів *PHGDH*, *SHMT1* та *SHMT2* за умов нокдауну ERN1 опосередковується протеїнкіназною активністю цього сигнального протеїну, а чи відомо яким саме механізмом?

4. Ви показали, що експресія генів *SHMT1* та *SHMT2* змінюється по різному у клітинах гліобластоми за умов пригнічення ERN1. Як можна це пояснити?

Зауваження:

1. Назви розділів і текст до них мають бути на одній сторінці, а не окремо (наприклад, розділ 1.6 на 56 ст., а сам текст розділу розпочинається з 57ст.).

2. На рис. 3.3.1, 3.3.2 та 3.3.4 не завадило б нанести пунктирну лінію на рівні 100 %, яка полегшила б аналіз отриманих результатів.

Взагалі дисертація написана доброю науковою мовою, але були виявлені деякі стилістичні та граматичні помилки, які відмічено у тексті.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам:

Дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР в цілому відповідає спеціальності 091 – Біологія та встановленим вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 року №44. Зроблені зауваження ні в якому разі не знижують значення отриманих результатів і не впливають на загальну високу оцінку роботи. За актуальністю досліджуваної теми, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням, об'ємом експериментального матеріалу, самостійного внеску дослідника і зроблених висновків дисертація дисертаційна робота Мирослави є повним та завершеним дослідженням.

Отже, дисертаційна робота Мирослави СЛЮСАР “Молекулярні механізми регуляції експресії генів синтезу серину у клітинах гліоми” може бути представлена до офіційного захисту на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Провідний науковий співробітник відділу біохімії м'язів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,
доктор біологічних наук,
старший дослідник

Тетяна ВЕКЛІЧ

