

**Відзив офіційного опонента  
на дисертаційну роботу Жукової Дарії Андріївни**

**«Біологічні властивості куркуміну, адсорбованого на протеїнах»,  
поданої до захисту на здобуття наукового ступеня наукового ступеня доктора  
філософії за спеціальністю 091 – Біологія та Біохімія, 09 - Біологія.**

Використання біологічно активних речовин природного походження є пріоритетним напрямком створення ліків, але, як правило, більшість з цих речовин повинні пройти додаткову обробку для покращення їхніх фармакокінетичних властивостей. Зокрема активне використання поліфенольної сполуки куркуміну, що володіє багатьма цінними властивостями для медицини, гальмується поганою розчинністю цієї сполуки, а також її неадресною дією в організмі. Дисертаційна робота Жукової Д.А. націлена на розробку підходів для подолання цих недоліків куркуміну і тому є **актуальною**.

**Дисертаційна робота виконана в рамках базової НДР** фундаментальних досліджень НАН України на тему «Визначення рецепторів, залучених до регуляції імунобіологічних функцій організму» (№ д/р 0119U002511, 2019-2023 рр.). Тема дисертаційної роботи затверджена Вченою радою Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол № 5 від 12 червня 2024 року).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Для покращення властивостей куркуміну і підвищення ефективності його застосування для потреб медицини цю сполуку було іммобілізовано на різних білках, а саме на модельному білку альбуміні і на нетоксичному похідному CRM197 дифтерійного токсину та його В-фрагменті. Показано, що в складі таких комплексів куркумін ефективніше пригнічував життєздатність злоякісних клітин ліній A431 та MDA-MB-231 пухлин людини в порівнянні, як це робив вільний куркумін чи вільне похідне CRM197 та його В-фрагмент. Така дія згаданих комплексів пов'язана з індукцією в клітинах-мішенях процесів апоптозу і некрозу.

**Науково-практична цінність роботи.** Запропоновані авторкою роботи підходи зі створення комплексів куркуміну з різними протеїновими носіями дозволяють розширити застосування цієї біологічно активної сполуки в біології і медицині, зокрема підняти питання про її адресну доставку до пухлинних клітин за рахунок взаємодії протеїнових носіїв зі специфічними рецепторами на поверхні клітин-мішеней. Якщо бичачий сироватковий альбумін слугував індикатором неспецифічної доставки куркуміну в клітини, то нетоксичний протеїн CRM197 дифтерійного токсину та його субодиниця SbB, завдяки їхній спорідненості до рецептора pro-HB-EGF вказували на специфічну доставку

куркуміну в злоякісні клітини, яким властива надекспресія цього рецептора. У роботі показано вищу ефективність впливу таких комплексів на малігнізовані клітини, порівняно з псевдонормальними клітинами людини. Отже, створені в роботі комплекси мають перспективи для застосування у хіміотерапії онкологічних захворювань.

Для досягнення **мети роботи**, сформульованої вище, визначено **6 головних завдань**, які логічно вирішуються в дисертаційній роботі.

**Методи дослідження** в дисертаційній роботі сучасні й відповідають зазначеній спеціальності 091 – Біологія та Біохімія 09 - Біологія. Необхідно зазначити використання метало-афінної хроматографії для очищення рекомбінантних протеїнів, а також культивування мікроорганізмів з метою нарощування біомаси для виділення рекомбінантних протеїнів, спектрофотометрію, протокову цитометрію і конфокальна мікроскопію. У співпраці проведено молекулярний докінг.

**6 висновків**, які зроблені за результатами досліджень, є лаконічними і достатньо конкретними.

У **списку наукових публікацій** за результатами роботи налічується 5 наукових робіт, у т.ч. стаття в міжнародному журналі Journal of Drug Delivery Science and Technology (імпакт фактор = 5.0, 1-й автор), Biophys J. (імпакт фактор = 3.7), Biotechnologia Acta (1-й автор).

**Особистий внесок здобувачки** прописаний у коментарях до цитованих публікацій за темою дисертаційної роботи. У 2-х із 3-ї наукових статей дисертантка є 1-м співавтором.

**Апробація результатів дисертаційної роботи** включає тези на Українському біохімічному конгресі (2019 р.) і конференції молодих вчених на біологічному факультеті Львівського національного університету імені Івана Франка.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 157 сторінках комп'ютерного набору. Вона має традиційну структуру і складається з таких розділів: Вступ, Огляд літератури, Матеріали і методи досліджень, Результати досліджень (чотири розділи) та їх обговорення, Узагальнення результатів, Висновки, Список використаних джерел, що налічує 272 найменувань, усі латиницею. Робота ілюстрована 1 таблицею та 32 рисунками.

Підсумовуючи аналіз матеріалів, наведених у дисертаційній роботі Жукової Д.А., можна стверджувати, що дана робота заслуговує високої оцінки.

Разом з тим, до окремих положень цієї роботи в опонента виник ряд **зауважень, запитань і побажань**, які викладені нижче.

1. В змісті «Огляду літератури» авторкою виділено спеціальний підрозділ «Спосіб отримання куркуміну», що не стосується теми дисертаційної роботи.
2. Біоетичну експертизу роботи з лабораторними тваринами проведено відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Разом з тим, авторка не вказала в своїй роботі номер протоколу комісії з біоетики і дату її засідання.
3. За результатами молекулярного докінгу авторці необхідно вказати кількісні характеристики (ступінь афінності) взаємодії куркуміну з протеїном CRM197 дифтерійного токсину та з його субодиницею SbB.
4. На Рис. 3.4 (стор. 76) необхідно вказати стрілками домінантні білки на електрофореграмі, оскільки ці білки далекі від гомогенності. До речі, на стор. 113 в розділі «Обговорення» авторка стверджує, що на підставі наведеної електрофореграми можна зробити висновок про достатньо високий рівень чистоти (очевидно, гомогенності) отриманих протеїнів, що не відповідає дійсності.
5. В кінці підрозділів «Результатів дослідження» прийнято вказувати, де опубліковані наведені результати.
6. На Рис. 3.8 (стор. 81) для кращої наочності необхідно було навести криві залежності доза-ефект при визначенні IC50 не лише для вільного куркуміну, але й для його комплексів з протеїном CRM197 дифтерійного токсину та з його субодиницею SbB.
7. Представлення залежності доза-ефект доцільно надавати в однаковій системі координат (див. Рис. 3.8, 3.15, 3.16, 3.17), щоб читачу було зручно сприймати наведені результати.
8. Практично в усій дисертаційній роботі в рисунках по осі ординат вказано оптичне поглинання, флуоресценція і т.п., тоді як фактично це умовні одиниці, що вказують на цитотоксину дію, індукцію апоптозу і т.п. Це необхідно було чітко пояснити в підписах до відповідних рисунків.
9. На стор. 109 наведено Рис. 3.24 (схема сигнального шляху), який відноситься до «Обговорення результатів», а не до «Результатів власних досліджень».

10. На стор. 105 авторка роботи вживає невдалий вислів «протилежні шляхи загибелі клітин шляхом апоптозу і некрозу». Зважаючи на існування феномену «некроптоз» ці шляхи не можна вважати протилежними.
11. В тексті роботи авторка використовує термін «наноконплекси», не маючи доказів про «нанорозміри» досліджуваних частинок.
12. Чи дійсно авторка роботи вважає доцільним використовувати високотехнологічний і дорогий продукт, яким є протеїн CRM197 дифтерійного токсину та його субодиниця SbV для іммобілізації відносно дешевого продукту, яким є куркумін?

Підсумовуючи, слід сказати, що у більшості випадків зроблені зауваження мають редакційний характер і основна частина з них може бути легко виправлена. На поставлені опонентом питання здобувачка зможе відповісти під час захисту дисертації. Тому висловлені зауваження не є підставою для заперечення високої оцінки цієї роботи.

**Висновок.** Дисертаційна робота Жукової Д.А. «**Біологічні властивості куркуміну, адсорбованого на протеїнах**» є завершеним науковим дослідженням, яке за своєю актуальністю, об'ємом, науковим і науково-практичним значенням, оригінальністю отриманих результатів, а також адекватністю проведеного в роботі аналізу й зроблених висновків відповідає чинним вимогам Постанови КМУ "Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії" від 12.01.2022 р. № 44 і може бути представлена до офіційного захисту на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія та Біохімія.

Офіційний опонент,  
завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу  
Інституту біології клітини НАН України,  
доктор біологічних наук, професор,  
член-кореспондент НАН України

Стойка Р.С.

Львів, 6 серпня 2024 р.

Підпис члена-кореспондента НАН України Стойки Р.С. засвідчую:

Вчений секретар Інституту біології клітини НАН України,  
к.б.н.

Барська М.Л.