

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Юлії КУЛШ

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

представлену на здобуття наукового ступеня

доктора філософії

у галузі знань 09 – Біологія,

за спеціальністю 091 – Біологія

Дисертаційна робота Юлії КУЛШ є актуальним дослідженням, оскільки направлена на вивчення особливостей дії наночастинок оксиду графену та одностінних вуглецевих нанотрубок на рівень експресії низки транскрипційних факторів, а також важливих регуляторних протеїнів і мікроРНК, у клітинах гліобластоми лінії U87MG у порівнянні з нормальними астроцитами людини лінії NHA/TS для визначення чутливості нормальних і пухлинних клітин до гено-токсичного впливу цих вуглецевих наночастинок. В роботі проаналізована також роль стресу ендоплазматичного ретикулума у механізмі дії як оксиду графену, так і вуглецевих нанотрубок, на рівень експресії генів, які відіграють важливу роль у контролі транскрипції та різних метаболічних процесів у клітинах гліобластоми.

Оскільки наночастинок оксиду графену і одностінних вуглецевих нанотрубок є похідними вуглецю, то прийнято вважати їх “біосумісними”, а отже більш придатними для використання у біології та медицині. Більше того, ці наночастинок є високо стабільними структурами і досить легко, не знаючи бар’єрів проникають у клітини різних органів та тканин, причому не лише у пухлинні, а і у нормальні клітини. Але саме ці властивості вуглецевих наночастинок лежать і в основі їх негативних ефектів та гено-токсичності, зокрема. У зв’язку цим, порівняльне дослідження впливу одностінних вуглецевих нанотрубок і оксиду графену на рівень експресії генів, що кодують важливі регуляторні протеїни і транскрипційні фактори, на нормальні астроцити і клітини гліобластоми є актуальним і необхідним для вияснення негативних ефектів вуглецевих наночастинок.

Ця дисертаційна робота містить усі необхідні розділи, детально розглянуті сучасні досягнення по вивченню механізмів дії наночастинок різної природи, у тому числі і вуглецевої природи на основі досить великої кількості проаналізованих новітніх літературних джерел.

Добре описані використані при виконанні дисертаційної роботи методи біохімії та молекулярної біології, які є сучасними і забезпечили успішне її виконання. Це методи культивування нормальних астроцитів, клітин гліобластоми і генетично модифікованого її варіанта (клітини без обох ензиматичних активностей сигнального протеїну ERN1), виділення РНК, перевірка її на чистоту, зворотна транскрипція РНК, кількісна полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі для оцінки рівня експресії мРНК, а також і мікроРНК, методи біоінформатики та статистичної обробки результатів.

Дисертаційна робота виконувалась протягом 2021–2025 рр. у відділі молекулярної біології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України у рамках проведення планових досліджень за бюджетними темами.

У результаті проведених досліджень отримані нові дані стосовно впливу як наночастинок оксиду графену, так і нанотрубок, які мають вагоме наукове і практичне значення. Наукова новизна отриманих Юлією КУЛІШ даних в тому, що нормальні астроцити на рівні експресії генів ключових транскрипційних факторів і стрес-залежних протеїнів є більш чутливими до дії наночастинок як оксиду графену, так і одностінних вуглецевих нанотрубок порівняно з клітинами гліобластоми, що виражалось у більш виражених змінах рівня експресії *DDIT3*, *ATF3*, *DNAJB9*, *HBEGF* та низки інших генів у нормальних астроцитах як за дії менших, так і більших доз цих вуглецевих наночастинок, причому зменшена чутливість клітин гліобластоми до їх дії може бути обумовлена полі-резистентністю пухлинних клітин із-за наявного у них стресу ендоплазматичного ретикулума. 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* координувало зі зниженням рівня експресії специфічної до них мікроРНК *miR-182-5p*, а зменшення рівня експресії мРНК *TP53* – з підвищенням *miR-98-5p*. А за дії одностінних вуглецевих нанотрубок на ембріони *Danio rerio* було виявлено порушення експресії мікроРНК *miR-19a-3p*, *miR-21-5p* і *miR-96-5p*, які контролюють проліферацію клітин та процеси нейрогенезу, що узгоджувалося з аномаліями розвитку головного мозку ембріонів.

Важливе практичне значення отриманих результатів полягає у встановленні факту більш високої чутливості нормальних клітин організму, зокрема нормальних астроцитів людини лінії NHA/TS, до дії на них наночастинок оксиду графену та вуглецевих нанотрубок, що оцінювали по

рівню експресії генів важливих регуляторних і транскрипційних факторів порівняно з клітинами гліобластоми лінії U87MG, найбільш злоякісними пухлинами головного мозку. Варто відмітити, що ці дані є вагомим застереженням до використання різних вуглецевих наночастинок у біології і медицині, зокрема при діагностиці та лікуванні онкологічних захворювань, без ретельного вивчення їх можливого впливу на різні нормальні клітини організму, на функціональну активність геному в них, оскільки експресія деяких із генів є високочутливим маркером гено-токсичності наночастинок.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 14 робіт, із них 5 статей в іноземних фахових наукових виданнях, представлених у базах Scopus і PubMed, та 9 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій. Наукові результати дисертації, які розкривають основний зміст дисертації, висвітлені у 5 наукових статтях.

Дисертаційна робота добре написана і вичитана, результати ретельно проаналізовані.

По роботі є деякі запитання та зауваження.

Запитання:

1. Чим можна пояснити різний за величиною ефект наночастинок оксиду графену на експресію генів транскрипційних факторів?

2. Як може бути обумовлена більша чутливість нормальних астроцитів людини до дії вуглецевих наночастинок на експресію генів порівняно з клітинами гліобластоми?

3. Відомо, що у клітинах гліобластоми є стрес ендоплазматичного ретикулума, як і в інших злоякісних пухлинах, а чи є цей стрес у нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS?

4. Як, на Вашу думку, чи буде дія наночастинок на клітини різних органів подібною після їх введення в організм, чи ні?

Зауваження:

Принципових зауважень немає, але були виявлені деякі граматичні помилки.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам:

Дисертаційна робота Юлії КУЛІШ у цілому відповідає галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія та за актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, самостійним внеском

дослідника відповідає 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. Наведені запитання і зауваження не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, оскільки вони мають дискусійний характер і стосуються переважно інтерпретації отриманих автором результатів та оформлення рукопису.

Враховуючи високий науковий рівень дисертації і наукових публікацій здобувачки, зокрема, новизни представлених експериментальних результатів, їх наукової значимості, робота Юлії КУЛІШ “Вплив вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів та мікроРНК” може бути рекомендована до офіційного захисту.

Головний науковий співробітник

відділу молекулярної імунології

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,

доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України

Денис КОЛИБО

Підпис Дениса КОЛИБО
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна
національної академії наук України
"7" 07 2025 р. СКО

