

Голові спеціалізованої вченої ради
при Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України
доктору біологічних наук,
старшому науковому співробітнику,
завідувачу відділу хімії та біохімії ферментів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України
Артему ТИХОМИРОВУ

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук,
члена-кореспондента НАН України, заступника директора з наукової
роботи Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Богдана МОРГУНА

на дисертаційну роботу Юлії КУЛІШ

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

подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 «Біологія», за спеціальністю 091 «Біологія»

1. Актуальність обраної теми

У своїй дисертаційній роботі Юлія КУЛІШ вивчає особливості впливу вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів і мікроРНК у клітинах гліобластоми лінії U87MG і нормальних астроцитах лінії NHA/TS людини. Обрані для дослідження регуляторні фактори є залежними від стресу ендоплазматичного ретикулума і задіяні у контролі процесів проліферації, нейрогенезі, формуванні злоякісних пухлин, як-от гліобластом. Останнім часом, велика увага приділяється вуглецевим наночастинкам (розміром від одного до декількох десятків нанометрів – вуглецеві нанотрубки,

фулерени, вуглецеві квантові точки тощо). До прикладу, оксид графену й одностінні вуглецеві нанотрубки вважаються перспективними для доставки ліків, контрастуванні станів при діагностиці, у якості біосенсорів і складових імплантатів, композитних матеріалів, електроніки, сонячних батарей, фільтрів для очищення води й інших рідин, а також терапії злоякісних пухлин. Разом з тим, дослідження різних авторів показують, що деякі наночастинки можуть проявляти токсичну дію як на клітинному, так і на молекулярному рівнях. Тож, порівняльне вивчення дії вуглецевих наночастинок, зокрема оксиду графену й одностінних вуглецевих нанотрубок, на експресію генів транскрипційних факторів, регуляторних протеїнів і мікроРНК у нормальних астроцитах та клітинах гліобластоми є актуальним, необхідним для реального розуміння біологічної небезпеки цих інноваційних сполук при можливому їх використанні у діагностиці чи терапії.

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

Дисертаційна Юлії КУЛІШ є частиною експериментальних досліджень, які виконуються у відділі молекулярної біології Інституту біохімії імені О. В. Палладіна НАН України протягом 2021–2025 рр. у рамках планових досліджень за бюджетною темою «Молекулярні механізми взаємодії сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулума та гіпоксії в репрограмуванні геному клітин гліоми» (номер державної реєстрації 0121U100662).

3. Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації

Основні положення, висновки та практичні рекомендації дисертації Юлії КУЛІШ витікають із отриманих нею результатів експериментальних досліджень і є добре обґрунтованими. Вони опрацьовані методами статистичного аналізу та знайшли достатнє відображення у п'яти статтях, опублікованих у закордонних журналах рівня Q3–Q4, представлених у наукометричних базах даних Scopus, PubMed і Web of Science (база даних, про

яку не згадано у дисертації, а варто було б), хоча і без першого авторства. Першим авторством опубліковано 4 тез конференцій.

4. Достовірність основних наукових положень, висновків і практичних досліджень та одержаних результатів

Достовірність основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій та одержаних результатів не викликає сумнівів, оскільки основні наукові положення та висновки, як і практичні рекомендації, були зроблені на основі статистично достовірних результатів. Проведений Юлією статистичний аналіз включав визначення нормальності розподілу варіант у групах.

5. Новизна основних наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів

Наукова новизна наукових досліджень Юлією КУЛІШ і одержаних нею результатів, а також основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій полягає у виявленні більш виражених змін рівня експресії генів низки залежних від стресу ендоплазматичного ретикулума транскрипційних і регуляторних факторів у нормальних астроцитах лінії NHA/TS людини у порівнянні з клітинами гліобластоми лінії U87MG за дії на них як оксиду графену, так і вуглецевих нанотрубок. Це переконливо свідчить про більшу чутливість нормальних клітин до гено-токсичної дії цих наночастинок. Вперше виявлено, що наночастинок оксиду графену змінюють також рівень експресії мікроРНК, які є важливими регуляторами експресії генів *HBEGF*, *TOB1* та *TP53* на пост-транскрипційному рівні. Виявлені специфічні сайти зв'язування мікроРНК *miR-182-5p* і *miR-98-5p* в мРНК *HBEGF*, *TOB1* та *TP53* і виявлено зниження рівня експресії мікроРНК *miR-182-5p* та підвищенням *miR-98-5p*. Показано, що зниження *miR-182-5p* асоціювалося зі збільшенням рівня мРНК *HBEGF* і *TOB1*, а підвищення *miR-98-5p* – зі зменшенням рівня експресії мРНК *TP53*. Отримані результати безперечно мають важливе наукове значення, оскільки вони спрямовані на вирішення актуальної наукового питання щодо

збільшеної чутливості експресії генів у нормальних астроцитах до дії різних вуглецевих наночастинок порівняно з клітинами гліобластоми.

6. *Практичне значення одержаних результатів*

Практичне значення одержаних Юлією КУЛІШ результатів полягає у встановленні факту більш високої чутливості експресії важливих регуляторних генів до токсичної дії наночастинок як оксиду графену, так і вуглецевих нанотрубок у нормальних астроцитах людини порівняно з клітинами гліобластоми лінії U87MG, найбільш злоякісними пухлинами головного мозку.

7. *Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях*

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації у повній мірі відображені у 5 статтях, опублікованих Юлією КУЛІШ у закордонних журналах, які представлені у наукометричних базах даних Scopus, PubMed, Web of Science і у 9 тезах доповідей, зроблених на престижних як вітчизняних, так і міжнародних наукових форумах.

8. *Структура дисертації*

Дисертаційна робота викладена на 165 сторінках друкованого тексту і містить 57 рисунків та 4 таблиці. Вона має всі необхідні для дисертаційної роботи розділи – анотацію (українською й англійською мовами), список публікацій здобувача за темою дисертації, перелік умовних скорочень, вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень, обговорення результатів, висновки, список використаних джерел літератури і додаток («Список публікацій здобувача за темою дисертації»), який дублює відповідний підрозділ у вступі. У вступі досить чітко відображена актуальність обраної теми досліджень, мета і завдання досліджень, методи досліджень, наукова новизна і практичне значення отриманих результатів, особистий внесок здобувачки, а також зв'язок роботи з науковою темою відділу молекулярної

біології, апробація отриманих результатів та публікації по темі виконаної дисертаційної роботи.

В огляді літератури детально проаналізовані сучасні наукові досягнення за темою дисертації на основі 202 наукових джерел, у тому числі й успіхи у вивченні механізмів дії як вуглецевих наночастинок, так і наночастинок іншої природи, роль стресу ендоплазматичного ретикулума у механізмах їх дії, прояву гено-токсичності, а також участь мікроРНК при цьому. Крім того, добре обґрунтована актуальність теми та необхідність проведення досліджень, які направлені на детальне з'ясування особливостей дії наночастинок оксиду графену і вуглецевих нанотрубок на експресію генів ключових транскрипційних факторів і регуляторних протеїнів у нормальних астроцитах і клітинах гліобластоми для з'ясування питання гено-токсичності цих вуглецевих наночастинок на нормальні клітини у порівнянні з клітинами пухлин.

У розділі «Результати досліджень» представлені результати дослідження рівня експресії генів низки транскрипційних факторів і регуляторних протеїнів у нормальних астроцитах та клітинах гліобластоми, а також у клітинах гліобластоми з пригніченою активністю *ERN1* за дії на них наночастинок оксиду графену і вуглецевих нанотрубок. Показано, що рівень експресії генів різних транскрипційних факторів і регуляторних протеїнів у нормальних астроцитах та клітинах гліобластоми істотно порушувався за дії вуглецевих наночастинок, причому по-різному, але у клітинах гліобластоми ефект був значно меншим порівняно з нормальними астроцитами. Виявлено зниження рівня експресії пухлино-супресорних генів і посилення експресії генів з про-онкогенними властивостями під впливом наночастинок як оксиду графену, так і вуглецевих нанотрубок, що підкреслює негативний характер цих змін в експресії генів. Представлені також результати вивчення дії вуглецевих наночастинок на рівень експресії мікроРНК і їх роль у регуляції експресії генів на пост-транскрипційному рівні.

Варто відзначити, що результати, отримані Юлією КУЛШ, ретельно проаналізовані та узагальнені у вигляді наглядних графіків у розділі «Обговорення результатів».

Висновки сформульовані чітко, вони є конкретними і повністю віддзеркалюють результати основних досліджень.

9. Недоліки дисертації щодо їх змісту та оформлення

Дисертаційна робота Юлії КУЛІШ містить всю необхідну для дисертації інформацію, добре написана й оформлена. Вона якісно вичитана і не містить кричущих помилок. Проте, хотілося б звернути увагу на: використання терміну «амплікон» замість «ампліфікат»; відсутність статей з першим авторством; до переліку умовних скорочень не вносяться терміни, які використовуються у тексті менше 3 разів (DMEM, ЕМТ ПЛР тощо); рядок у тексті не має завершуватися на числівник (стр. 93, 95, 101 тощо); таблиця 2.2 стовпчик «Послідовності праймера» правильніше було б назвати «Нуклеотидна послідовність праймера»; якщо з лівого боку запису нуклеотидної послідовності ставиться позначка 5', то з правого має стояти 3'; Розділ «2.1. Матеріали, культури клітин та умови проведення експериментів» стр. 54 «у виді водної дисперсії» краще подати «у вигляді ...»; дослідна *in vivo* система ембріонів риби *Danio rerio* легка у роботі, але модельна система щурів більш наближена до розуміння людини, чому б не використовувати її?

Ще маю наступні питання:

1. Чому наночастинки оксиду графену і вуглецевих нанотрубок порушують експресію різних генів по-різному?
2. Що відомо з літератури про дію найбільш стабільної молекули фулерена C_{60} на експресію генів?
3. Експресію якого з вивчених Вами генів можна було б запропонувати як найбільш показовий молекулярний маркер, так би мовити біосенсор на виявлення присутності наночасинок у розчині?
4. Чи є відмінності у впливі на експресію генів наночастинок різних металів у порівнянні з вуглецевими наночастинками?
5. Як Ви вважаєте, який ефект можна очікувати при взаємодії вуглецевих наночастинок з клітинами водних рослин?

Висновок

Дисертаційна робота Юлії КУЛІШ «Вплив вуглецевих наночастинок на експресію генів транскрипційних факторів та мікроРНК» за своєю актуальністю, науково-теоретичним рівнем, науковою новизною і практичним значенням відповідає усім 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 їй ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія», за спеціальністю 091 «Біологія».

Доктор біологічних наук,
член-кореспондент НАН України,
заступник директора з наукової роботи
Інституту клітинної біології та генетичної
інженерії НАН України



Богдан МОРГУН

