

## ВІДГУК

### офіційного опонента

на дисертаційну роботу Антоненко Світлани Василівни  
«Роль USP1, GLG1, ZNF217 у розвитку та прогресуванні у Bcr-Abl-  
позитивної хронічної мієлоїдної лейкемії», представлену до захисту на  
здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю  
03.00.22. – молекулярна генетика

Дисертаційна робота Антоненко Світлани Василівни присвячена дослідженню нових білків-партнерів онкобілка Bcr-Abl та встановленню їх ролі у розвитку та прогресуванні хронічної мієлоїдної лейкемії.

**Актуальність роботи.** Провідним напрямом сучасних наукових досліджень є пошук нових підходів до терапії хронічної мієлоїдної лейкемії, які забезпечуватимуть селективне знижувати рівень онкобілка Bcr-Abl та будуть незалежними від мутаційної мінливості, що потребує глибокого розуміння молекулярних перебудов, сигнальних каскадів злоякісних клітин та детальний скринінг білкових взаємодій тирозинкінази Bcr-Abl. Таким чином, актуальність дисертаційної роботи Антоненко С.В., яка полягає у визначенні ролі білків USP1, GLG1, ZNF217 у патогенезі Bcr-Abl-позитивної хронічної мієлоїдної лейкемії не викликає сумнівів. Оскільки отримані в дисертаційній роботі результати розкривають нові молекулярні аспекти етіології хронічної мієлоїдної лейкемії та створюють передумови для розробки альтернативних підходів терапії за допомогою білка-мішені здатного селективно взаємодіяти з онкобілком Bcr-Abl та сприяти його клітинному протеолізу.

**Загальна характеристика роботи.** Дисертаційна робота Антоненко С.В. побудована за традиційною і схемою включає анотацію, вступ, огляд літератури, методичну частину, результати і їх обговорення, висновки, список літератури, який охоплює 203 найменування. Дисертацію викладено

на 157 сторінках стандартного машинопису, вона містить 38 рисунків, 2 таблиці та 1 додаток.

Вступ містить достатню аргументацію актуальності роботи, постановку мети та відповідних завдань дослідження, обґрунтування наукової новизни дослідження та практичної цінності отриманих результатів, що представлені в дисертаційній роботі.

У розділі «Огляд літератури» особлива увага приділяється характеристиці молекулярно-генетичних механізмів розвитку хронічної мієлоїдної лейкемії, онкобілка Bcr-Abl та його білків партнерів USP1, GLG1, ZFP217, а також проблем та перспективних підходів терапії Bcr-Abl-позитивної хронічної мієлоїдної лейкемії. Матеріал викладений в огляді літератури свідчить про здатність дисертанта до критичного аналізу та узагальнення фактичного матеріалу.

У розділі «Матеріали і методи» наводить детальний перелік реагентів та вичерпний опис всіх методів, які були застосовані у дисертаційній роботі. Для проведення дослідження автором було використано широкий спектр сучасних молекулярно-генетичних методів (полімеразна ланцюгова реакція, клонування фрагментів кДНК, трансфекція, імунофлуоресцентний аналіз, коімунопреципітація, електрофорез у поліакриламідному гелі, вестерн-блот, конфокальною мікроскопією, біоінформатичного аналізу тощо).

Результати досліджень викладені у 5 підрозділах роботи з належною повнотою і наведенням відповідних мікрофотографій, графіків тощо. У першому підрозділі результатів встановлено взаємодію онкобілка Bcr-Abl з білком USP1 у K562. За допомогою імунофлуоресцентного аналізу з подальшою конфокальною мікроскопією показано, що утворення білкового комплексу Bcr-Abl/USP1 відбувається в ядрі клітини. Здійснено аналіз фосфорильованих форм білка USP1 у клітинах K562. У другому підрозділі результатів автором створено ряд плазмідних векторів з кодуючою послідовністю гена *USP1*, які були використані при встановленні взаємодії і колокалізації USP1 з PH доменом онкобілка Bcr-Abl. Третій підрозділ

присвячений дослідженню впливу деубіквітинази USP1 на онкобілок Bcr-Abl. У четвертому підрозділі охарактеризовано білковий комплекс Bcr-Abl/GLG1, а фосфорилування GLG1 визначається одним із можливих наслідків взаємодії з онкобілком. Останній підрозділ присвячено вивченню колокалізації між онкобілком Bcr-Abl і білком ZFP217, показано вплив тирозин кіназної активності Bcr-Abl на експресії ZFP217 у клітинах K562.

У розділі «Результати експериментальних досліджень» Антоненко С.В. аналізує власні дані та порівнює їх із опублікованими даними інших дослідників. Автором запропоновано гіпотетичну модель протеосомної деградації онкобілка Bcr-Abl.

Висновки, які робить здобувачка, відповідають поставленим задачам та ґрунтуються на отриманих результатах.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 21 наукову працю, з них 8 статей у фахових журналах та 13 тез доповідей у збірках матеріалів вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та з'їздів.

**Новизна та практичне значення результатів.** Вперше експериментальним чином підтверджено наявність білкової взаємодії між онкобілком Bcr-Abl та білками USP1, GLG1, ZNF217 та визначено внутрішньоклітинну локалізацію даних білкових комплексів. Особливо цінними видаються дані про вплив деубіквітинази USP1 на рівень онкобілка Bcr-Abl, що може мати не лише теоретичне, а й практичне значення для розробки нових підходів лікування ХМЛ. Цікавість викликають і результати, які показують вплив тирозинкіназної активності онкобілка Bcr-Abl на експресію транскрипційного фактора ZFP217, функціональні властивості якого пов'язані із процесами проліферації, диференціації клітин, антиапоптичною відповіддю. Таким чином, представлені в дисертаційній роботі результати поглиблюють розуміння про сигнальні шляхи включені у розвиток та прогресування Bcr-Abl-позитивної хронічної мієлоїдної лейкемії та створюють передумови для розробки нової стратегії лікування захворювання.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота відповідає основному плану науково-дослідних робіт відділу молекулярної генетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України і виконувалась в рамках бюджетних тем: «Роль Vcr-асоційованих білків у сигнальних шляхах при мієлопроліферативних захворюваннях» (номер державної реєстрації – 0108U008527, 2009-2013 рр.), «Роль різних форм білка Vcr-Abl в сигнальних шляхах та формування пухлинного фенотипу при мієлопроліферативних неоплазмах» (номер державної реєстрації – номер державної реєстрації – 0113U004305, 2014-2018 рр.), «Ендогенні чинники розвитку мієлопроліферативних пухлин та раку передміхурової залози» (номер державної реєстрації – 0119U100821, 2019-2023 рр.).

Основні положення дисертації знайшли ґрунтовне і логічне відображення в авторефераті, який повністю відповідає змісту дисертації.

Разом із зазначеними позитивними сторонами дисертаційної роботи, хотілося б обговорити, деякі дискусійні питання: які перспективи використання інгібітору ML323 у клінічній практиці, чи є він токсичним для людини? Чи існують менш токсичні аналоги для інгібування деубіквітинуючої активності білка USP1?

Вищезазначені питання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, оскільки вони стосуються переважно інтерпретації результатів.

**Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до кандидатських дисертацій.** Дисертаційна робота Антоненко Світлани Василівни «Роль USP1, GLG1, ZNF217 у розвитку та прогресуванні у Vcr-Abl-позитивної хронічної мієлоїдної лейкемії» є цілісною, закінченою науковою працею. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів дисертація відповідає вимогам п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України

№567 від 24 липня 2013р., які пред'являються до кандидатських дисертацій,  
а Світлана Василівна Антоненко заслуговує на присудження їй наукового  
ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22. – молекулярна  
генетика.

Провідний науковий співробітник  
лабораторії діагностики  
онкогематологічних захворювань  
ДУ «Інститут гематології та  
трансфузіології НАМН України»

*С.В. Андреева* д.б.н., с.н.с. Андреева С.В.

