

ВІДГУК

офіційного опонента на 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

Актуальність роботи. Актуальність дисертаційної роботи Світлани Василівни Антоненко визначається невідомим зростанням кількості хворих на лейкемії, в тому числі і на хронічну мієлоїдну лейкемію, а високоефективних методів лікування таких хворих до цього часу так і немає. Як відомо, маркером хронічної мієлоїдної лейкемії є Філадельфійська хромосома, яка містить гібридний онкоген *Bcr-Abl*, продуктом якого є онкопротеїн *Bcr-Abl* з конститутивною протеїнкіназною активністю. А тому пошук нових підходів до терапії хронічної мієлоїдної лейкемії, направлених на селективне зниження не лише активності, а й рівня онкопротеїну *Bcr-Abl*, є дійсно актуальним напрямом сучасних наукових досліджень в молекулярній генетиці, оскільки цей протеїн відіграє важливу роль у розвитку та прогресуванні хронічної мієлоїдної лейкемії. І тому дисертаційна робота Світлани Василівни присвячена саме виявленню нових партнерів онкопротеїну *Bcr-Abl* та в'ясненню їх можливої ролі в регуляції активності цього онкопротеїну, а також розвитку і прогресуванні хронічної мієлоїдної лейкемії.

Загальна характеристика роботи. Дисертаційна робота Світлани Василівни складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який охоплює 203 найменування. Дисертацію викладено на 157 сторінках стандартного машинопису, вона містить 38 рисунків, 2 таблиці та 1 додаток.

В розділі 1 «Огляд літератури» Світлана Василівна проаналізувала досить велику кількість сучасних літературних наукових даних за темою роботи та обґрунтувала необхідність проведення своїх досліджень. Вона детально

охарактеризувала філадельфійську хромосому (Ph⁺), механізми появи онкогена *Bcr-Abl* та його роль в етіології хронічної мієлоїдної лейкемії, а також протеїнів USP1, GLG1 і ZFP217, причому особлива увага була зосереджена на їх участі у сигнальних каскадах клітин злоякісних новоутворень.

В розділі «Матеріали і методи» описані сучасні молекулярно-генетичні методи, які були використані нею під час виконання дисертаційної роботи (полімеразна ланцюгова реакція, клонування фрагментів кДНК, флуоресцентна і конфокальна мікроскопія, культивування еукаріотичних культур, коімунопреципітація, трансформація бактерій та експресія рекомбінантного протеїну в клітинах *E. coli*, афінна хроматографія, пул-даун аналіз, електрофорез у поліакриламідному гелі, вестерн-блот аналіз і біоінформатичний аналіз).

В розділі «Результати експериментальних досліджень» представлені результати численних експериментальних досліджень, які демонструють взаємодію онкопротеїну *Bcr-Abl* з протеїнами USP1 і GLG1, колокалізацію *Bcr-Abl* із протеїном ZNF217, а також внутрішньоклітинну локалізацію цих протеїн-протеїнових комплексів (за допомогою імунофлуоресцентного аналізу). Світланою Василівною було створено ряд генетичних конструкцій, що дозволило їй отримати рекомбінантний протеїн USP1, який був використаний при дослідженні комплексу USP1 з PH. Вона продемонструвала, що протеїн-протеїнова взаємодія між *Bcr-Abl* та USP1 реалізується за рахунок PH домену онкопротеїну. У своїй дисертаційній роботі Світлана Василівна представила також результати біоінформатичних та експериментальних досліджень, які продемонстрували наявність фосфорильованих форм протеїнів USP1 і GLG1 у клітинах ХМЛ, що може бути наслідком їх взаємодії із тирозинкіназою *Bcr-Abl*. Світланою Василівною було також показано, що деубіквітіназа USP1 впливає на рівень онкопротеїну *Bcr-Abl* і що інгібування тирозинкіназної активності *Bcr-Abl* супроводжується зниженням чи повною відсутністю експресії транскрипційного фактора ZNF217. Варто відзначити, що статистична обробка отриманих нею результатів виконана на належному рівні.

У розділі «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» Світлана Василівна провела детальний аналіз власних результатів і порівняла їх із результатами, опублікованими іншими дослідниками, що знайшло відображення в розділі «Аналіз та узагальнення отриманих результатів». На основі власних результатів та наявних у літературі даних нею запропоновано гіпотезу, згідно якої протеїн USP1 може деубіквітинувати онкопротеїн Vcr-Abl і таким чином запобігати його протеосомній деградації та сприяти прогресуванню захворювання. Світлана Василівна також запропонувала гіпотетичну модель дерегуляції сигнальних шляхів за участю GLG1 тирозинкіназною активністю Vcr-Abl і визначила можливі наслідки цієї дерегуляції для клітини.

Зроблені Світланою Василівною висновки є чіткими і повністю відповідають отриманим результатам. Основні наукові положення і висновки дисертаційної роботи знайшли відображення в 21 науковій праці, із них 8 статей у фахових журналах та 13 тез доповідей у збірках матеріалів вітчизняних і міжнародних наукових конференцій і з'їздів.

Стосовно наукової новизни одержаних результатів. Отримані Світланою Василівною наукові результати є дійсно новими, вони мають вагоме як наукове, так і практичне значення. Наукова новизна її дисертаційної роботи полягає у виявленні ядерної взаємодії між онкопротеїном Vcr-Abl та протеїном USP1 за хронічної мієлоїдної лейкемії, а також фосфорилування тирозинових залишків в ізоформах протеїну USP1, які взаємодіють з онкопротеїном Vcr-Abl. Світланою Василівною виявлена також залежність між активністю протеїну USP1 та рівнем онкопротеїну Vcr-Abl і запропонована гіпотетична модель, згідно якої протеїн USP1 може бути перспективною терапевтичною мішенню при розробці нових підходів до терапії ХМЛ, а також показана взаємодія цього онкопротеїну з протеїном GLG1 з утворенням комплексу Vcr-Abl/GLG1 в апараті Гольджі. Важливим є результат по залежності рівня експресії протеїну ZFP217 від тирозинкіназної активності онкопротеїну Vcr-Abl у клітинах ХМЛ.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає у виявленні нових протеїнів-партнерів тирозинкінази Bcr-Abl, які можуть виступати в якості потенційних мішеней для терапевтичних засобів при лікуванні хронічної мієлоїдної лейкемії, причому саме деубіквітиназа USP1 може стати такою мішенню для селективного зниження рівня онкопротеїну за рахунок посилення його убіквітин-протеосомної деградації.

Поряд з наведеними позитивними сторонами дисертаційної роботи, на мій погляд доцільно почути думку Світлани Василівни стосовно деяких **дискусійних питань**:

1. Родина специфічних до убіквітину протеаз є досить численною, але з онкопротеїном Bcr-Abl взаємодіє лише USP1. Яка структурна особливість специфічної до убіквітину пептидази 1 забезпечує таку взаємодію? Чи можуть взаємодіяти з онкопротеїном Bcr-Abl інші представники цієї родини за умов виключення активності USP1?

2. Чи залежить взаємодія USP1 з онкопротеїном Bcr-Abl від його тирозинкіназної активності, зокрема за дії іматинібу, а також за умов виникнення резистентності до нього?

3. Ви показали, що іматиніб знижує рівень протеїну ZFP217. Як ви вважаєте, за рахунок чого відбувається це зниження: знижується експресія гена *ZFP217* чи стабільність протеїну і чи не може бути причетним до цього USP1?

4. Що відомо із літератури про зміни експресії генів *USP1* та *ZFP217* за лейкемій і також у злоякісних пухлинах?

Вищезазначені питання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, оскільки вони стосуються 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 Bcr-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., (зі змінами, внесеними згідно Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015р., №1159 від 30.12.2015р. та №567 від 27.07.2016р.), 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.

Офіційний опонент,

завідувач відділу молекулярної біології

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

член-кореспондент НАН України,

доктор біологічних наук, професор

 Мінченко О.Г.

Підпис Мінченко О.Г.
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
національної академії наук України
"05" "11" 2020 р.

