

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту молекулярної
біології і генетики НАН України,
академік НАН України, доктор
біологічних наук, професор



 Михайло ТУКАЛО

«27» жовтня 2023 р.

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації

на тему «Внутрішньоклітинні барвники як зонди для флуоресцентної
візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії»
на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 09 Біологія
за спеціальністю 091 Біологія та біохімія

ВИТЯГ

із протоколу засідання об'єднаного семінару №2
відділу біомедичної хімії, відділу білкової інженерії та біоінформатики,
відділу синтетичних біорегуляторів та відділу
біомолекулярної електроніки ІМБГ НАН України
від 27 жовтня 2023 р.

З метою надання висновку про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації 27 жовтня 2023 року на об'єднаному семінарі наукових відділів ІМБГ НАН України – біомедичної хімії, білкової інженерії та біоінформатики, синтетичних біорегуляторів та біомолекулярної електроніки – здобувач ступеня доктора філософії Синюгіна Агнеса Тарасівна публічно презентувала наукові результати дисертації на тему «Внутрішньоклітинні барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії».

На об'єднаному семінарі були присутні 15 осіб, у тому числі 3 доктори біологічних наук, 2 доктори хімічних наук, 5 кандидатів біологічних наук, 5

кандидатів хімічних наук: Головуюча – д.б.н., ст.н.с., пров.н.сп., завідувачка Кафедри біології ІМБГ НАН України Сергеева Т.А. Присутні: чл.-кор. НАН України, д.б.н., проф., зав. відділу Корнелюк О. І., д.х.н., ст.н.с., зав. відділу Дубей І.Я, д.б.н., ст.н.с., пров.н.сп. Солдаткін О.О., д.х.н., проф., зав. відділу Ярмолук С.М., к.б.н., ст.н.с. Мошинець О.В., к.б.н., ст.н.с. Шалак В.Ф., к.х.н., м.н.с. Кузів Я. Б., к.б.н., н.с. Папуга О.Є., к.х.н., ст.н.с. Бджола В.Г., к.б.н., ст.досл. Шкотова Л.В., к.х.н., ст.н.с. Лукашов С.С., к.х.н., м.н.с. Котей І.М., к.б.н., н.с. Заєць В.М., к.х.н., н.с. Боровиков О.В.

Порядок денний. Обговорення дисертаційного дослідження аспірантки відділу біомедичної хімії Синюгіної Агнеси Тарасівни на тему «Внутрішньоклітинні барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії», поданого на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія та біохімія.

Науковий керівник – доктор хімічних наук, професор, завідувач відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України Ярмолук Сергій Миколайович. Дисертація виконувалася у відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (протокол № 19 від 17 грудня 2019 року).

У публічній презентації Синюгіна А.Т. виклала основні положення своєї дисертаційної роботи. В її обговоренні взяли участь д.х.н., ст.н.с., зав. відділу Дубей І. Я, чл.-кор. НАН України, д.б.н., проф., зав. відділу Корнелюк О. І., д.б.н., ст.н.с., пров.н.сп. Сергеева Т. А., к.б.н., ст.н.с. Мошинець О. В., к.б.н., ст.н.с. Шалак В. Ф., к.х.н., н.с. Кузів Я. Б.

З відгуком на роботу виступили рецензенти: доктор хімічних наук, завідувач відділу синтетичних біорегуляторів Дубей І.Я. та кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу регуляторних механізмів клітини Мошинець О.В., які дали позитивну оцінку виконаній роботі, підкреслили її наукову новизну, високий теоретичний та

експериментальний рівень, а також важливість отриманих флуоресцентних зондів для візуалізації клітин.

На засіданні обговорили проєкт висновку про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації «Внутрішньоклітинні барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії».

Актуальність теми. Стрімкий розвиток біотехнологій потребує швидких і зручних засобів детекції та візуалізації біологічних об'єктів. Радіоізотопи, які традиційно використовувались з цією метою мають ряд суттєвих недоліків серед яких висока вартість, нестабільність, небезпечні умови праці. З кожним роком в дозвільній державній системі виникає все більше і більше перепон для рутинного використання радіоізотопів в області наукових біологічних досліджень та медицини. Тому на заміну радіоізотопам приходять більш зручні імунохімічні та спектрально-люмінесцентні методи. Поліметинові барвники широко використовуються для флуоресцентної візуалізації клітин, дизайну кон'югатів із лікарськими засобами та як реагенти для фотодинамічної терапії. Найбільш привабливими є флуоресцентні барвники, що випромінюють в довгохвильовій частині спектру (650 – 900 нм). Це дозволяє мінімізувати їхню фототоксичність та знизити фонову флуоресценцію біомолекул.

Як правило, для біологічних застосувань використовуються переважно катіонні поліметинові барвники. Але здатність до селективного накопичення таких барвників в мітохондріях не дає змогу сконструювати кон'югати для адресної доставки потрібних нам молекул в певні компартаменти клітини. Довгохвильові флуоресцентні барвники, що не містять заряду чи заряд є скомпенсованим всередині молекули, допомагає розширити практичні можливості для флуоресцентної візуалізації клітин та дизайну адресних флуоресцентних кон'югатів. Тому поставлена в дисертації мета – пошук нових флуоресцентних барвників для візуалізації клітин і реагентів для фотодинамічної терапії на основі внутрішньоклітинних барвників є актуальною і своєчасною.

Мета і завдання. Метою роботи є розробка та дослідження реагентів для візуалізації клітин і фотодинамічної терапії на основі мероціанінових та

сквараїнових барвників. Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Синтезувати довгохвильові мероціанінові та сквараїнові барвники та вивчити їх спектральні властивості.
2. Вивчити взаємодію мероціанінових та сквараїнових барвників із глобулярними білками спектрально-люмінесцентними методами.
3. Дослідити синтезовані мероціанінові та сквараїнові барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин на прикладі клітинних ліній MCF-7 та A2780.
4. Вивчити фотодинамічні властивості бензіндольних сквараїнових барвників із використанням пастки синглетного кисню та на клітинній лінії MCF-7.
5. Дослідити вплив агрегації та зв'язування із бичачим сироватковим альбуміном на фотодинамічні властивості сквараїнових барвників.
6. Синтезувати кон'югати мероціанінових та сквараїнових барвників із глюкозаміном, вивчити їх спектральні властивості та проникність в клітини MCF-7 за допомогою конфокальної мікроскопії.

Об'єкт дослідження. Мероціанінові та сквараїнові барвники, та їх комплекси із сироватковими альбумінами.

Предмет дослідження. Спектрально-флуоресцентні характеристики внутрішньоклітинних барвників в органічному, водному середовищах та в присутності глобулярних білків.

Методи дослідження. У роботі використані наступні методи дослідження: органічний синтез, флуоресцентна спектроскопія, електронна спектроскопія поглинання, конфокальна та флуоресцентна мікроскопії, проточна цитометрія, молекулярний докінг.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджені спектрально-флуоресцентні властивості ряду мероціанінових барвників із жорстко закріпленими мезо-замісниками в поліметиновому ланцюзі, а також ряд сквараїнових барвників із бічними замісниками різної йонності та ліпофільності. Показано, що введення мезо-замісника в поліметиновий ланцюг мероціанінових барвників підвищує фотостійкість барвників, впливає на спектральні характеристики, а також на зв'язування із людським сироватковим альбуміном.

Продемонстроване потенційне використання сквараїнових барвників як реагентів для фотодинамічної терапії. Встановлено, що агрегація сквараїнів сприяє сенсibilізації активних форм кисню.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені нові реагенти для флуоресцентної візуалізації клітин на основі внутрішньойонних мероціанінових та сквараїнових барвників. Важливо зазначити, що барвники поглинають в області від 600 нм, мають низьку цитотоксичність та гарно проникають в клітини.

Запропонований потенційний фотосенсibilізатор на основі сквараїнового барвника, що характеризується збудженням у довгохвильовій частині спектру та здатний до флуоресцентної візуалізації клітин.

Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, яке було реалізоване автором відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих і виконаних протягом 2019 – 2023 рр. Особистий внесок здобувача полягає в участі у формулюванні мети і основних завдань роботи, систематизації та аналізі даних літератури, плануванні та виконанні експериментальних досліджень, інтерпретації та узагальненні отриманих даних, формулюванні висновків роботи за участі наукового керівника та співавторів публікацій.

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 5 статей у наукових фахових журналах:

1. Syniugina A., Chernii S., Losytsky M., Syniugin A., Slominskii Y., Balanda A., Özkan G., Mokhir A., Kovalska V., Yarmoluk, S. “The synthesis and study of novel merocyanine probes for protein detection and cells visualization” *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2021, 7, 100046; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprp.2021.100046> *Особистий внесок здобувача – збір літературних даних, проведення синтетичної частини роботи, спектрально-флуоресцентні дослідження барвників, підготовка матеріалу до публікації.*

2. Syniugina A., Chernii S., Losytsky M., Ozkan H.G., Slominskii Yu, Syniugin A., Pekhnyo V., Mokhir A., Yarmoluk S. “N-alkyl functionalized squaraine dyes as fluorescent probes for the detection of serum albumins”. *Biopolymers and Cell*, 2022; 38(2):103-116 <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000a75>

Особистий внесок здобувача – аналіз даних літератури, спектрально-флуоресцентні дослідження барвників, дослідження їх взаємодії з білками, підготовка матеріалу до публікації.

3. Syniugina A., Malanchuk O., Chernii S., Bdzhola A., Horbatok K., Syniugin A., Yarmoluk S. “The squaraine derivatives as potential photosensitizers in photodynamic therapy of cancer”. Biopolymers and Cell, 2023; 39(1):3-13, <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000a81> *Особистий внесок здобувача – аналіз даних літератури, спектрально-флуоресцентні дослідження, оцінка фотодинамічних властивостей барвників, підготовка статті до друку.*

4. Ishchenko, A., Syniugina A. “Structure and Photosensitizer Ability of Polymethine Dyes in Photodynamic Therapy: A Review”. Theoretical and Experimental Chemistry, 2023; 58(6):373 – 401, <http://dx.doi.org/10.1007/s11237-023-09754-9> *Особистий внесок здобувача – підбір та узагальнення літератури.*

5. Синюгіна А.Т., Іщенко О.О. «Вплив агрегації бензоіндоскварайнів на генерацію синглетного кисню». Допов. Нац. акад. наук Укр. 2023. № 4. С. 60-67. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.04.060>. *Особистий внесок здобувача – проведення експериментальної частини, підготовка статті до друку.*

Апробація результатів дослідження. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на конференціях: 1. Всеукраїнська наукова конференція молодих вчених (Київ, Україна, 2020) 2. Міжнародна наукова конференція для студентів та молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення» (Вінниця, Україна, 2020) 3. Міжнародна наукова конференція для студентів та молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (Вінниця, Україна, 2021) 4. Наукова конференція «Львівські хімічні читання 2021» (Львів, Україна, 2021) 5. XV Всеукраїнська конференція з молекулярної та клітинної біології з міжнародною участю (Київ, Україна, 2022).

УХВАЛИЛИ:

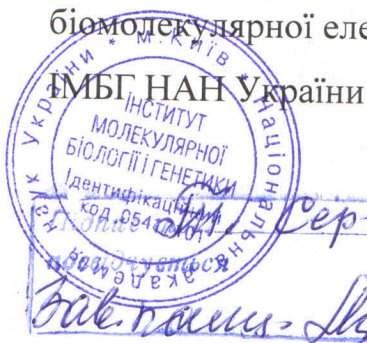
1. Дисертаційна робота Синюгіної Агнеси Тарасівни «Внутрішньоклітинні барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії» є завершеною науково-дослідною

роботою, що відповідає всім вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія та біохімія.

2. Затвердити висновок про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертаційної роботи Синюгіної Агнеси Тарасівни «Внутрішньоклітинні барвники як зонди для флуоресцентної візуалізації клітин і потенційні реагенти для фотодинамічної терапії».

3. Враховуючи заслухану інформацію, засідання наукового семінару відділу біомедичної хімії із залученням фахівців інших структурних підрозділів ІМБГ НАН України рекомендує Вченій раді Інституту молекулярної біології і генетики НАН України створити разову спеціалізовану вчену раду для прийняття її до захисту. **Головою ради** рекомендувати доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника, провідного наукового співробітника відділу біомолекулярної електроніки ІМБГ НАН України Сергееву Т.А. **Рецензентами** рекомендувати доктора хімічних наук, старшого наукового співробітника, завідувача відділу синтетичних біорегуляторів ІМБГ НАН України Дубея І.Я. та кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника відділу регуляторних механізмів клітини ІМБГ НАН України Мошинець О.В. **Офіційними опонентами** роботи рекомендувати доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна Векліч Т.О. та доктора хімічних наук, старшого наукового співробітника Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України Фрасинюка М.С.

Головуюча об'єднаного семінару –
доктор біологічних наук, старший
науковий співробітник, провідний
науковий співробітник відділу
біомолекулярної електроніки



Тетяна СЕРГЕЄВА