

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Голова Вченої ради Інституту
молекулярної біології і генетики

НАН України,

доктор біологічних наук, професор

Михайло ТУКАЛО

“3” червня 2026 р.

ВИТЯГ

із протоколу засідання об’єднаного семінару відділу сигнальних систем
клітини, молекулярної генетики та молекулярної онкогенетики
ІМБІГ НАН України від “3” червня 2026 р.

На засіданні були присутні 19 осіб, у тому числі 3 доктори біологічних наук, 5 кандидатів біологічних наук.

СЛУХАЛИ: публічну презентацію аспіранта відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України 2018-2026 років навчання **Мазова Андрія Валерійовича** його дисертаційної роботи **“Особливості функціональних зв’язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7”**, що висувається на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – «Біологія», галузь знань 09 – «Біологія».

З дисертаційною роботою попередньо ознайомилися доктор біологічних наук, завідувач відділу молекулярної онкогенетики, член-кор.НАН України Кашуба В.І. та кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу функціональної геноміки Кропивко С.В.

У публічній презентації Мазов А.В. виклав основні положення своєї дисертаційної роботи.

В її обговоренні взяли участь к.б.н. Бджола А.В., к.б.н. Дибков М.С., д.б.н. Кашуба В.І., к.б.н. Кропивко С.В., д.б.н. Телегеев Г.Д., д.б.н. Негруцький Б.С., к.б.н. Ткачук З.Ю. З відгуком на роботу виступили рецензенти: доктор біологічних наук, завідувач відділу молекулярної онкогенетики, член-кор.НАН України Кашуба В.І. та старший науковий співробітник відділу функціональної геноміки Кропивко С.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.

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації на тему “Особливості функціональних зв’язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7”

Актуальність теми.

Рак грудної залози (РГЗ) у жінок є основною причиною смертності, спричиненої онкологічними захворюваннями. Найпоширеніша та загальноновизнана класифікація пухлин базується на визначенні експресії в них рецепторів естрогену (ESR1), прогестерону (PR) і епідермального фактора росту (HER2). Пухлини люмінальних субтипів, що є ESR1 позитивними мають більш сприятливий прогноз перебігу захворювання і відповідь на протипухлинну терапію порівняно з ESR1- і особливо потрійно негативними субтипами, що є найбільш агресивними і характеризуються високим рівнем метастазування і, відповідно, низьким рівнем виживаності пацієнтів.

Переважна кількість злоякісних пухлин грудної залози людини (біля 70%) є ESR1+, що вказує на залежність пухлин від естрогенів і активності ESR1. З цієї причини стандартною для застосування в клініці є антиестрогенова терапія, суть якої полягає у використанні антагоністів

естрогену (тамоксифен), негативних регуляторів експресії ER (фульвістрант) та блокаторів синтезу естрогену (інгібітори ароматази). Однак відповідь на таку терапію коливається в межах 35–75%, а в багатьох випадках спостерігається розвиток резистентності до терапії. Механізм такої резистентності достеменно не відомий. Однак вважається, що однією з причин може бути ліганд-незалежна активація головної р66-ізоформи ESR1 та пригнічення її експресії, а також активація онкогенної р36-ізоформи ESR1 за невідомим механізмом.

Відомо, що саме mTOR/S6K1 бере участь в індукції незалежної від естрогену активації ESR1 шляхом S6K1-опосередкованого фосфорилування ESR1 за Ser167, що ініціює його димеризацію і транслокацію до ядра. Загалом вважається, що гіперактивування mTOR/S6K1 сигнального шляху є важливим для канцерогенеза РГЗ. Надекспресію гена S6K1 часто спостерігають у клінічних зразках РГЗ, що корелює з поганим прогнозом у пацієнтів. З іншого боку, показано, що інгібування S6K1 у клітинах тричі негативного РГЗ призводить до суттєвого зниження рівнів міграції та інвазії цих клітин, вказуючи на важливу роль S6K1 у функціонуванні клітин метастатичного РГЗ. Крім того, виявлено, що активація S6K1 індукує посилення малігнізації епітеліальних клітин грудної залози, негативних за естрогеновим рецептором ESR1.

Слід зазначити, що резистентність пухлин до ендокринної терапії може бути обумовлена і критичним зменшенням вмісту ESR1 в клітинах пухлини, що, в тому числі, сприяє набуттю пухлиною більш агресивного фенотипу з ознаками метастазування, характерними для потрійно негативного субтипу пухлин. Це може відбуватися як завдяки зменшенню стабільності ESR1 на рівні білка та мРНК, так і пригніченню експресії гена ESR1 за поки невідомими механізмами. Таким чином, з одного боку, ESR1 є ключовою мішенню в терапії ESR1-позитивних пухлин, але з іншого, його низький рівень експресії є характерним для найбільш агресивного субтипу пухлин з ознаками

метастазування та резистентності до більшості хіміотерапій. Експериментальне siРНК-опосередковане пригнічення експресії ESR1 в клітинах карциноми грудної залози дійсно призводить до ініціації епітеліально-мезенхимного переходу (EMT), що на рівні пухлини є ознакою метастазування. Нещодавно у відділі сигнальних систем клітини ІМБГ НАНУ було ідентифіковано нову р60 ізоформу S6K1, що суттєво відрізняється за регуляцією активності від відомих р70 та р85 ізоформ, оскільки нечутлива до дії mTOR-інгібіторів. Крім того, отримано переконливі дані щодо причетності ізоформ S6K1 до регуляції експресії ESR в клітинах РГЗ. За нашими даними, вибіркоче пригнічення експресії ізоформ кінази супроводжується повним блокуванням експресії ESR1 і ініціацією EMT, притаманною трічі негативним субтипам РГЗ. Отже, з'ясування взаємозв'язку між регуляцією активності та експресії ізоформ ESR1 та S6K1 сприятиме поглибленню розуміння їхніх функцій в клітинах карциноми грудної залози з урахуванням молекулярних субтипів пухлин, а отже і розробці в подальшому нових стратегій лікування як ESR1+, так і ESR1- субтипів РГЗ.

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

Дисертація відповідає основному плану науково-дослідних робіт відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України і виконувалась в рамках бюджетних тематик: «Особливості структурно-функціональної організації mTOR/S6K-залежного сигнального каскаду в нормальних та злоякісних клітинах: множинність сплайсових ізоформ mTOR та S6K кіназ» (2015-2020, 0110U000692); «Особливості функціональної активності ізоформ кінази рибосомного білка S6 (S6K1) та молекулярних механізмів її регуляції в нормі та патології» (2021-2025, 0121U109973).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджено вплив експресії естрогенового рецептора ESR1 на стан S6K1-залежного

сигналювання з використанням створених з використанням системи редагування геному CRISPR/Cas9 субліній клітин карциноми грудної залози людини MCF-7 з диференційною експресією ESR1. Встановлено, що пригнічення експресії ESR1 негативно впливає на експресію кінази рибосомного білка S6K1 і, як наслідок, на її загальну активність, що, своєю чергою, призводить до пригнічення проліферативної та локомоторної активності клітин MCF-7.

Вперше досліджено роль окремих ізоформ S6K1 в регуляції активності ESR1 шляхом регуляції статусу його фосфорилування за Сер 118 та Сер 167. Встановлено, що експресія р70 та р60 ізоформ S6K1 призводить до суттєвого підвищення рівня фосфорилування за Сер167, натомість експресія ізоформи р85 не впливає на цей показник. Навпаки, для Сер 118 показано, що його фосфорилування підвищується за умови експресії лише р85-ізоформи S6K1.

З використанням створених мутантних субліній клітин MCF-7 з мімікрією сайту фосфорилування шляхом заміни Сер 167 на аспарагінову кислоту та блокуванням сайту фосфорилування шляхом заміни Сер 167 на аланін встановлено, що фосфорилування Сер 167 не залучене до регулювання активності S6K1.

Вперше визначено особливості експресії ізоформ S6K1 у пухлинах грудної залози людини. Виявлено пригнічення експресії ключових ізоформ S6K1 в пухлинах потрійно-негативного типу поряд з підвищенням в пухлинах люмінального А- та Б-типів.

Вперше виявлено пригнічення експресії мРНК-ізоформи р60S6K1 в пухлинах раку грудної залози всіх молекулярних субтипів порівняно з умовно-нормальною тканиною грудної залози.

Вперше досліджено кореляцію експресії ESR1 та ізоформ S6K1 в пухлинах грудної залози людини різних молекулярних субтипів і виявлено спільну динаміку експресії в усіх досліджуваних типах пухлин.

Практичне значення одержаних результатів. Естрогеновий рецептор

відіграє надзвичайно важливу роль в патогенезі раку грудної залози жінок, і саме тому близько 70% випадків раку потребують антиестрогенової терапії, спрямованої на пригнічення активності ESR1. Визначення функціональних зв'язків ESR1 з S6K1 відкриває нові можливості для пошуку нових ланок впливу на ESR1 в ході терапії раку грудної залози. Крім того, це також є надзвичайно важливим для розуміння молекулярних механізмів набутої резистентності до естрогенової терапії, що пов'язують з активацією mTOR/S6K1-сигнального каскаду і безпосередньо з активацією S6K1. З'ясування особливостей функціональних зв'язків ESR1 з ізоформами S6K1 у цьому контексті є надзвичайно важливим, адже ефективною мішенню для терапії можуть бути не всі ізоформи, а, до прикладу, лише p70 та p60, для яких саме і було показано можливість фосфорилування ESR1 за Ser167. З огляду на відсутність остаточної визначеності ролі сайтів фосфорилування Ser 167 та Ser118 в регуляції активності ESR1 в тому числі і у зв'язку з роллю в прогресії пухлин грудної залози ізоформа p85 також може бути терапевтичною мішенню, адже вона сприяє підвищенню іншого сайту фосфорилування - Ser118 критичного для зв'язування ESR1 з ДНК і критичного для активності як фактора транскрипції.

Низка створених моделей клітин MCF7 з диференційною експресією ізоформ ESR1 буде надалі використовуватися для поглибленого аналізу молекулярних механізмів регуляції ESR1 в клітинах карциноми грудної залози людини.

Публікації за темою дисертації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 3 статті, з них 2 – у періодичних фахових виданнях України категорії А і 1 – у періодичних фахових виданнях України категорії Б, а також 3 тез доповідей у наукових збірниках конференцій.

Особистий внесок здобувача.

Викладені в дисертації результати були отримані автором самостійно або за його безпосередньої участі в проведенні експериментів та обробці даних. Дисертант особисто здійснив аналіз та узагальнення літературних джерел, що стосуються теми дослідження.

Планування дослідження та обговорення отриманих даних було проведено за участі наукового керівника, завідувача відділу сигнальних систем клітини, д.б.н., проф., академіка НАНУ В.В. Філоненка. Результати висвітлено у спільних публікаціях.

Основний обсяг експериментальних даних, який викладений у дисертації, отриманий за безпосередньої участі її автора. Автором самостійно проведено очистку рекомбінантних форм ESR1, проведено імунізацію тварин та отримано антитіла, проведено характеристику антитіл, охарактеризовано стабільні лінії MCF-7 з диференційною експресією ізоформ ESR1, ПЛР-аналіз ESR1, HER2, S6K1 в пухлинах грудної залози людини. ДНК клонування проведено разом з к.б.н. Крупською І.В., стабільні лінії MCF-7 отримано разом з к.б.н. Савінською Л.О., мутантні форми S6K1 отримано разом з к.б.н. Пальчевським С.С. Проліферативну та локомоторну активність субліній MCF-7 та аналіз експресії маркерів EMT проведено разом з аспірантом Марценюком М.Є.

Тема дисертаційної роботи Мазова Андрія Валерійовича “Особливості функціональних зв’язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7” була затверджена на засіданні Вченої ради Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, протокол №18 від «18» грудня 2018.

Дольова участь співавторів наукових публікацій Мазова А.В. які входять до списку опублікованих праць у дисертації “Особливості функціональних зв’язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7”, що подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – “Біологія і біохімія”, галузь знань 09 – “Біологія”:

1. A.V. Mazov, I. V. Kroupskaya. Generation and characterization of polyclonal antibodies specific to human estrogen receptor ER α . *Biotechnologia Acta* T. 17, No. 3, 2024, P. 59-65.

Мазов А.В. – експресія та очищення рекомбінантних протеїнів ESR1, імунізація тварин, отримання та характеристика антитіл.

Крупська І.В. – клонування ДНК.

2. L. O. Savins'ka, S. A. Kvitchenko, S.S. Palchevskiy, I. V. Kroups'kaya, A. V. Mazov, O. M. Garifulin, V. V. Filonenko. Generation of the MCF-7 cell sublines with CRIS PR/Cas9 mediated disruption of estrogen receptor alfa (ESR 1) expression. Ukr. Biochem. J., (2024); 96(6):29-35.

Мазов А.В. – проведення експериментальних досліджень, підготовка статті.

Савінська Л.О. – отримання стабільних ліній MCF-7

Квітченко С.А. – отримання стабільних ліній MCF-7

Пальчевський С.С. – клонування ДНК

Гаріфулін О.М. – обговорення результатів.

Філоненко В.В. – постановка завдання дослідження та обговорення результатів.

3. L.O. Savinska, S.A. Kvitchenko, M.Ye. Martsynyuk, I.V. Kroupskaaya, A.P.Pogribna, A.V. Mazov, O.M. Garifulin, V.V Filonenko. ESR1 Gene Editing and its Impact on S6K1 Signaling and Cell Behavior. Biopolymers and Cell. 2025; 41(3):181.

Мазов А.В. – проведення експериментальних досліджень, підготовка статті.

Савінська Л.О. – культивування клітин

Квітченко С.А. . – культивування клітин

Марцинюк М.Є – аналіз проліферативної та локомоторної активності клітин та аналіз маркерів ЕМТ

Крупська І.В. – дизайн олігонуклеотидів

Погрібна А.П. – обговорення результатів.

Гаріфулін О.М. – обговорення результатів

Філоненко В.В. – обговорення результатів.

Відомості про співавторів наукових праць Мазова А.В. (теми дисертацій та рік захисту):

1. Савінська Л.О., к.б.н., " Особливості експресії α та β ізоформ протеїнкінази рибосомного білка S6 при злоякісній трансформації в тканинах молочної залози людини" (Київ, 2004).
2. Крупська І.В. к.б.н., с.н.с., "Особливості контролю експресії генів *rplJL Escherichia coli* на рівні трансляції" (Київ, 1992).
3. Гаріфулін О.М. к.б.н., "Ідентифікація комплексів генів, які змінюють нормальну експресію в астроцитарних гліомах " (Київ, 2001).
4. Погрібна А.П. к.б.н. "Вивчення властивостей продукту онкогена РТІ-1 моделі його аналога із сімейства eEF1A" (Київ, 2006)
5. Марцинюк М.Є. - аспірант Інституту молекулярної біології генетики.
6. Квітченко С.А. – студентка КНУ тараса Шевченка.

Апробація роботи. Результати роботи представлені й доповідались на конференціях:

Основні положення дисертації були висвітлені на наступних конференціях:

1. XIV Всеукраїнська конференція з молекулярної та клітинної біології з міжнародною участю (Київ, Україна, 2020);
2. XV Всеукраїнська конференція з молекулярної та клітинної біології з міжнародною участю (Київ, Україна, 2021);
3. XIX Всеукраїнська конференція молодих вчених ІМБіГ (Київ, 2025).
4. XX Всеукраїнська конференція молодих вчених ІМБіГ (Київ, 2026).

ПОСТАНОВИЛИ:

1. Дисертаційна робота Мазова Андрія Валерійовича “Особливості функціональних зв’язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та

ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7”, є завершеною науково-дослідною роботою, що відповідає всім вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – “Біологія”, галузь знань 09 – “Біологія”.

2. Затвердити висновок про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертаційної роботи Мазова Андрія Валерійовича “Особливості функціональних зв’язків між ізоформами естрогенового рецептора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7”.

3. Враховуючи заслухану інформацію, засідання наукового семінару відділу сигнальних систем клітини із залученням фахівців інших структурних підрозділів ІМБІГ 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 д.б.н., професора, завідувача відділу молекулярної генетики Телегєєва Г.Д. Рецензентами рекомендувати доктора біологічних наук, член-кор. НАНУ, завідувача відділу молекулярної онкогенетики ІМБГ НАНУ Кашубу В.І. та кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника відділу функціональної геноміки Кропивко С.В. Офіційними опонентами роботи рекомендувати д.б.н., проф., завідувача відділу сигнальних механізмів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна Дробот Л.Б. та к.б.н. старшого наукового співробітника Інституту експериментальної патології, радіобіології та онкології ім Р.Є Кавецького Шлапацьку Л.М.

Голова семінару

доктор біологічних наук,

завідувач відділу молекулярної генетики



Геннадій Телегєєв

Геннадій Телегєєв