

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Стрільбицької

Ольги Михайлівни на тему

«Регуляція фізіолого-біохімічних процесів *Drosophila melanogaster* шляхом модуляції сигнальної системи TOR/IS/MYC у стовбурових клітинах кишківника»

представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія

Актуальність теми дисертації. *Drosophila melanogaster*

зарекомендувала себе зручним та успішним модельним об'єктом у дослідженнях різних напрямків – від класичних механізмів успадкування до тонких молекулярних змін на клітинному рівні. Це пояснюється відносно простотою роботи з цим об'єктом, та в той же час наявність широкого спектру генетичних методів, які дозволяються моделювати різноманітні патологічні стани, аналогічні до таких у людини. А висока гомологія геному та консервативність клітинних сигнальних систем дозволяють екстраполювати одержані дані на ссавців та людину. Все вище сказане справедливо і для особливостей функціонування травного тракту дрозофіли. Ця система забезпечує травлення та всмоктування поживних речовин, а отже, забезпечує енергетичний гомеостаз організму. Процеси диференціації та регенерації клітин кишківника належать до висококонсервативних, та знаходяться під контролем сигнальних шляхів Notch, JAK/STAT, EGFR, TOR та інсулінового сигнального шляху. Це фундаментальні сигнальні шляхи, які здійснюють контроль за багатьма життєво-важливими процесами, тому широко вивчаються. Один з аспектів функціонування генів еукаріотичних організмів полягає у їх диференційній активності, і важливим є вивчення впливу модуляції експресії окремих генів у конкретних типах клітин. Особливо важливо вивчати яким чином така локальна модуляція впливає не лише на стан цих клітин або органу, а і на фізіологічні показники на організменному рівні. Таку унікальну можливість надає модельний об'єкт *Drosophila melanogaster*. Тому мета даної роботи – вивчення ролі активності

сигнальних шляхів TOR, IS та надекспресії транскрипційного фактору Мус у стовбурових клітинах кишківника та ентеробластах на фізіолого-біохімічний стан плодової мушки *Drosophila melanogaster* – є актуальною та важливою.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Для реалізації завдань дисертації автором використано різноманітні експериментальні методи біологічних досліджень: фізіологічні, біохімічні, генетичні та молекулярні. Отримані результати проаналізовано за допомогою статистичних методів обробки даних та обрано відповідні статистичні критерії, що забезпечило достовірність одержаних висновків. Використані методи дослідження повністю відповідають меті, завданням дисертації та сучасним вимогам для підтвердження наукових досліджень. Зроблені висновки відображають поставлені завдання дисертаційної роботи.

Оцінка змісту дисертації.

Дисертація складається з Вступу та 5 розділів: «Сигнальні шляхи у регуляції клітинних процесів, кишківникового гомеостазу та старіння», який, фактично, представляє собою огляд літературних даних; «Об'єкти і методи досліджень»; експериментальні результати представлені у розділах «Вплив TOR/IS та MYC у стовбурових клітинах кишківника на фізіологічні показники *Drosophila*», «Регуляція метаболічних процесів *Drosophila* шляхом зміни активності TOR/IS ТА MYC у стовбурових клітинах кишківника» та «Роль TOR/IS та MYC у стовбурових клітинах у регуляції гомеостазу кишківника *Drosophila*»; після чого автор подає «Аналіз та узагальнення результатів». Слід відмітити, що такий вибір розділів, а також комбінація експериментальних даних – дещо ускладнює сприйняття матеріалу, однак це не знижує якості представлених результатів.

Розділ 1. «Сигнальні шляхи у регуляції клітинних процесів, кишківникового гомеостазу та старіння» містить три підрозділи, які написані на основі аналізу сучасних літературних даних. Автор дає основні відомості про обрані для власних досліджень сигнальні шляхи дрозофіли, їх залучення

у регуляцію клітинних механізмів кишківника; наводить докази зв'язку між фізіологічними процесами у кишківнику та процесами старіння. Огляд свідчить про ґрунтовні знання автором сучасного стану в обраній галузі досліджень. Однак, слід зауважити, що наведення тверджень щодо значення таких досліджень для виявлення механізмів продовження життя та усунення патологічних аспектів старіння не мають прямого відношення до теми дисертації та власних експериментальних даних.

Розділ 2. «Об'єкти і методи досліджень» містить опис використаних ліній дрозофіли та експериментальних методів. Слід відзначити широкий спектр використаних методик, які включають фізіологічні, біохімічні, генетичні і молекулярні. Щодо деяких нюансів застосованих методів виникають запитання, які наведені нижче у відповідному розділі Відгуку. Загалом, методи, застосовані в даному експериментальному дослідженні є високотехнологічні та адекватні поставленим меті та завданням.

Розділи 3, 4, 5 містять опис експериментальних досліджень. У розділі 3. описано як модуляція TOR/IS та MYC з допомогою драйверів *esc^{ts}-Gal4* та *suh^{ts}-Gal4* (у стовбурових і похідних клітинах кишківника) впливає на тривалість життя на середовищах різного складу, на кількість спожитої їжі та плодючість. Слід відзначити зауваження щодо подання даних про параметри виживання та їх достовірність, які наведені у таблицях 3.1, 3.2, 3.3. Достовірність різниці кривих виживання слід оцінювати саме за допомогою Log rank тесту, та параметром достовірності (p), який дає цей тест, а також показник середньої тривалості життя. Додатковий показник $M \pm m$, який автор розраховував у іншій програмі є зайвим, і не має відношення до наведеного показника p. У обговоренні власних даних зустрічаються невдалі формулювання, які ускладнюють сприйняття, наприклад «метаболічний та регенеративний гомеостази досягають свого піку» – гомеостаз це стан рівноваги, а отже, у цього стану не може бути піків.

У розділі 4. Викладено дані про зміни у деяких метаболічних показниках при модуляції TOR/IS та MYC, а саме автором проведено оцінку

вмісту глюкози, глікогену, триацилгліцеролів та рівня експресії генів системи *dilp-akh*.

У розділі 5. Автором подано експериментальні дані про зміну експресії генів, які кодують компоненти JAK/STAT, EGFR, JNK у кишківнику в дослідних особин із модуляцією TOR, IS та MYC.

Дисертація завершується аналізом та узагальненням результатів та висновками, які є аргументованими та відповідають поставленим меті та завданням. Крім текстового автор наводить схематичні узагальнення власних результатів.

Таким чином, дисертація Стрільбицької Ольги Михайлівни на тему «Регуляція фізіолого-біохімічних процесів *Drosophila melanogaster* шляхом модуляції сигнальної системи TOR/IS/MYC у стовбурових клітинах кишківника» є завершеною науковою роботою.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та ідентичність змісту автореферату.

За темою дисертації автором опубліковано 7 статей у наукових виданнях, які належать до наукометричної бази Scopus та 3 тези доповідей у матеріалах вітчизняних наукових конференцій. Основні положення експериментальної частини дисертаційної роботи викладено у 4 статтях, та 3 статті представляють огляд літературних даних.

Основні положення та висновки дисертації повністю викладені в авторефераті.

Зауваження та запитання щодо змісту й оформлення дисертації та автореферату.

Загальна оцінка роботи є позитивною, та все ж, слід відзначити деякі зауваження до змісту та відмітити наявність у тексті дисертації та автореферату поодиноких термінологічні неточності (такі, як «гени кишківника» – у кишківника немає власного геному чи генотипу) і граматичних помилок. Обговорення деяких запитань допоможе глибшому розумінню даних.

Запитання щодо обраних методичних підходів.

- Чим обумовлений вибір саме цих драйверних ліній для досліджень, з огляду на роль цього типу ліній у використаній UAS-Gal4 системі експресії?
- Чому дослідження були проведені лише на самках?
- Чим обумовлений вибір сполуки менадіон в ролі індуктора оксидативного стресу?
- Яким чином здійснили відбір метаболічних генів, зміну активності яких доцільно вивчити?

Запитання щодо результатів експериментальних досліджень.

- Практично у всіх фізіологічних показниках, описаних в Розділі 3., у особин з драйвером *suh^{ts}-Gal4* різниці із контролем не спостерігалось. Особливо це цікаво щодо фертильності. Адже якраз цей драйвер має ширший спектр експресії, в тому числі у яйниках та мозку, а отже, модуляція експресії фундаментальних сигнальних шляхів повинна була мати вплив. Як Ви можете пояснити ці результати?
- При аналізі даних про вміст глюкози, глікогену, триацилгліцеролів, а також рівня експресії генів системи *dilp-akh* при модуляції TOR/IS/MYC звертає на себе увагу те, що у особин з різними драйверами практично відсутня кореляція показників. Чи не може це бути зумовлене тим, що драйвер *esc^{ts}-Gal4* забезпечує модуляцію у клітинах кишківника, тоді як *suh^{ts}-Gal4*, експресується і в жировому тілі та мозку?

- Часто у тексті та, зокрема, у назвах Розділу 1. та 5. автор використовує термін «гомеостаз кишківника». Яке походження цього терміну, та яке його визначення?

Запитання щодо узагальнення даних та їх практичного значення.

- У підсумку автор вказує на літературні дані про те, що інгібування сигнального шляху TOR продовжує тривалість життя у багатьох модельних організмів. І саме це, на думку автора, робить подальші дослідження перспективними. Однак, власні дані автора є протилежними – модуляція TOR скорочувала життя особин. Як пояснити цю відмінність, та чи можна у

такому разі вважати перспективними результати автора? У підсумку роботи хотілось би почути про значення власних результатів, а не дотичних даних літератури.

Висловлені запитання та зауваження не знижують загальної позитивної оцінки результатів дисертації.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Стрільбицької Ольги Михайлівни на тему «Регуляція фізіолого-біохімічних процесів *Drosophila melanogaster* шляхом модуляції сигнальної системи TOR/IS/MYC у стовбурових клітинах кишківника» представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук є закінченим науковим дослідженням. Робота відповідає вимогам пп. 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Доцент кафедри генетики і біотехнології
Львівського національного університету
імені Івана Франка,
канд. біол. наук



Н.П. Матійців

Підпис доц. Матійців Н.П. засвідчую
Вчений секретар Львівського
національного університету
імені Івана Франка



доц. О. С. Грабовецька