Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U003309

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 01-11-2024

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Живоложний Артем Юрійович
2. Zhyvolozhnyi Artem Yu.

Кваліфікація: аспірант

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Освітньо-наукова програма підготовки докторів філософії в аспірантурі Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за спеціальністю 091 «Біологія»

Дата захисту: 18-12-2024

Спеціальність за освітою: Біохімія

Місце роботи здобувача: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): PhD 7143

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.15, 34.19.21

Тема дисертації:

1. Регуляторна роль позаклітинних везикул за умов норми та канцероґенезу
2. The regulatory role of extracellular vesicles under normal and carcinogenic conditions

Реферат:

1. Позаклітинні везикули (EVs) складають гетерогенну популяцію нано/мікророзмірних мембранних везикул, що постійно секретуються в позаклітинне середовище практично всіма дослідженими типами клітин як за нормальних фізіологічних, так і патологічних станів. EVs містять нуклеїнові кислоти, протеїни з різним функціональним потенціалом, сигнальні молекули та метаболіти, що дозволяє їм відігравати провідну роль у міжклітинній комунікації. Проте, глибина вивчення EVs, що містяться в низці біологічних рідин та продукуються пухлинними клітинами, все ще залишається недостатньою. Тому, метою дисертаційної роботи стало дослідити особливості продукування, молекулярний склад та функціональні властивості EVs,

ізольованих з поту людини та кондиціонованого середовища псевдонормальних та пухлинних клітин, з'ясувати вплив нормоксії/гіпоксії й адаптерного протеїну Ruk/CIN85 на зазначені показники. Встановлено, що EVs з поту людини містять DNA та RNA людського (74% зчитувань цих зразків відповідали геному людини (70% - tRNA, інші типи RNA - 18,5%, mRNA - 5%, miRNA - 1,85%) і 29% - неанотованим областям) і мікробного походження (бактерій, архей і вірусів, типових для мікробіому шкіри). Протеїновий склад EVs людського поту та зразків поту, зібраних з альгінатних пластирів продемонстрував присутність 1209 унікальних протеїнів людини, з яких ~ 20% були присутні у кожному індивідуальному дослідженому зразку, маркер екзосом CD63, 846 протеїнів (70%), спільних з загальним потом, і 368 протеїнів (30%) – з альгінатним пластиром, а також 1594 протеїнів бактерійного походження. Вплив гіпоксії на клітини аденокарциноми нирки призводить до посилення секреції EVs й помітних змін їх протеїнового вантажу порівняно з нормоксією. За допомогою LS-MS-аналізу в зразках «гіпоксичних» EVs виявлено надмірну присутність інтегринів, протеїнів, які беруть участь у забезпеченні адгезивності клітин. Вивчення хімічного складу препаратів EVs, що продукуються клітинами аденокарциноми нирки, за допомогою обмеженої в часі Раманівської спектроскопії та підсиленої поверхнею обмеженої в часі Раманівської спектроскопії виявило характерні зміни у амідних областях через зміни хімічних зв'язків у протеїнах EVs за умов гіпоксії. TG-RS та TG-SERS є перспективними безмітковими технологіями для вивчення впливу зовнішніх стимулів (гіпоксія) на склад EVs та відмінностей, що виникають внаслідок використання різних протоколів очищення EVs. Характеристика EVs, з кондиціонованого середовища клітин карциноми нирки миші лінії Renca з надекспресією адаптерного протеїну Ruk/CIN85 (Renca-RukUp) та контрольних клітин Renca-Mock за умов нормоксії та гіпоксії показала, що концентрація частинок, що продукуються клітинами Renca-RukUp, виявилася на порядок вищою за умов гіпоксії у порівнянні з умовами нормоксії. За нормоксії вміст протеїнів Ruk/CIN85, Alix і CD81 зростав у везикулах з клітин Renca-RukUp у порівнянні з клітинами Renca-Mock. За гіпоксії вміст досліджуваних протеїнів зменшувався більш ніж на 2 порядки у EVs з клітин Renca-RukUp, а вміст Ruk/CIN85 і CD81 зростав у EVs з Renca-Mock. Таким чином, Ruk/CIN85 є новим компонентом EVs, що продукуються пухлинними клітинами, який може відігравати регуляторну роль у контролі складу EVs за умов нормоксії та гіпоксії. Характеристика EVs, очищених з кондиціонованого середовища клітин ембріональної нирки людини лінії HEK293, стабільно трансфікованих вектором EGFP-Ruk/CIN85 (HEK293 EGFP-RukUp), продемонструвала, що EGFP-Ruk/CIN85 є компонентом EVs, що продукуються клітинами HEK293 EGFP-RukUp, при цьому EVs з надекспресією EGFP-Ruk/CIN85 здатні диференційно модулювати проліферативні властивості та рухливість клітин in vitro. Більшість ідентифікованих протеїнів, що диференційно експресуються в клітинах HEK293 EGFP-RukUp і виявляються в EVs, є метаболічними ензимами. EVs, що продукуються пухлинними клітинами аденокарциномних клітин грудної залози миші лінії 4T1 з надекспресією або зниженою експресією Ruk/CIN85, RukUp та RukDown, відповідно, містять Ruk/CIN85, характеризуються специфічними профілями вмісту його численних молекулярних форм та здатні модулювати проліферативну активність, рухливість і інвазивність клітин 4T1 WT. Таким чином, Ruk/CIN85 є конститутивним компонентом протеїнового складу EVs пухлинних клітин і , залежно від його вмісту в EVs, відіграє активну роль у контролі канцерогенезу.

2. Extracellular vesicles (EVs) represent a heterogeneous population of nano/micro-sized membrane vesicles that are constantly secreted into the extracellular environment by nearly all studied cell types under both normal physiological and pathological conditions. EVs contain nucleic acids, proteins with various functional potentials, signaling molecules, and metabolites, allowing them to play a leading role in intercellular communication. The goal of this dissertation was to investigate the production characteristics, molecular composition, and functional properties of EVs isolated from human sweat and the conditioned medium of pseudonormal and tumor cells, and to examine the influence of normoxia/hypoxia conditions and the adaptor protein Ruk/CIN85 on these parameters. It was found that human sweat EVs contain human DNA and RNAs (74% of reads corresponded to the human genome, with 70% being tRNA, 18.5% other RNA types, 5% mRNA, and 1.85% miRNA) and microbial origins (bacteria, archaea, and viruses typical of the skin microbiome). The protein composition of human sweat EVs and those collected from alginate patches revealed the presence of 1,209 unique human proteins, about 20% of which were present in every individual sample, along with the exosome marker CD63, 846 proteins shared with total

sweat, and 368 proteins with the alginate patch. In addition, 1,594 proteins of bacterial origin were detected. The effect of hypoxia on renal adenocarcinoma cells led to increased EVs secretion and notable changes in their protein cargo compared to normoxia. LS-MS analysis of "hypoxic" EVs revealed an excessive presence of integrins and proteins involved in cell adhesion. Time gated Raman spectroscopy and surface-enhanced time gated Raman spectroscopy showed distinctive changes in the amide regions of EVs proteins under hypoxia, suggesting that these techniques are promising for studying the effects of external stimuli, such as hypoxia, on EVs composition. Characterization of EVs from the conditioned medium of Renca mouse kidney carcinoma cells overexpressing Ruk/CIN85 (Renca-RukUp) and control Renca-Mock cells under normoxia and hypoxia showed that the quantity of particles produced by Renca-RukUp cells was ten times higher under hypoxia compared to normoxia. In normoxia, the levels of Ruk/CIN85, Alix, and CD81 were elevated in EVs from Renca-RukUp cells compared to Renca-Mock cells. However, under hypoxia, the levels of proteins decreased by more than hundred times in EVs from Renca-RukUp cells, while Ruk/CIN85 and CD81 increased in EVs from Renca-Mock cells. Thus, Ruk/CIN85 emerges as a novel EVs component in tumor cells, potentially playing a regulatory role in controlling EV composition under normoxia and hypoxia. Further characterization of EVs produced by HEK293 human embryonic kidney cells stably transfected with the EGFP-Ruk/CIN85 vector demonstrated that EVs containing EGFP-Ruk/CIN85 can modulate cell proliferation and motility in vitro. The proteins identified in EVs from HEK293 cells with EGFP-Ruk/CIN85 overexpression were mainly metabolic enzymes. EVs produced by 4T1 mouse breast adenocarcinoma cells with upregulated (RukUp) or downregulated (RukDown) expression of Ruk/CIN85 were found to contain different sets of its multiple molecular forms and could modulate the proliferative activity, motility, and invasiveness of 4T1 WT cells. This suggests that Ruk/CIN85 is a constitutive component of tumor cell-derived EVs and plays an active role in carcinogenesis depending on its content in EVs.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- Zhyvolozhnyi A, Samoylenko A, Bart G, Kaisanlahti A, Hekkala J, Makieieva O, Pratiwi F, Miinalainen I, Kaakinen M, Bergman U, Singh P, Nurmi T, Khosrowbadi E, Abdelrady E, Kellokumpu S, Kosamo S, Reunanen J, Röning J, Hiltunen J, Vainio SJ. Enrichment of sweat-derived extracellular vesicles of human and bacterial origin for biomarker identification. Nanotheranostics. 2024; 8(1):48-63. https://doi.org/10.7150/ntno.87822
- Samoylenko A, Kögler M, Zhyvolozhnyi A, Makieieva O, Bart G, Andoh SS, Roussey M, Vainio SJ, Hiltunen J. Time-gated Raman spectroscopy and proteomics analyses of hypoxic and normoxic renal carcinoma extracellular vesicles. Sci Rep. 2021; 11(1):19594. https://doi.org/10.1038/s41598-021-99004-6
- Ullah MS, Zhivonitko VV, Samoylenko A, Zhyvolozhnyi A, Viitala S, Kankaanpää S, Komulainen S, Schröder L, Vainio SJ, Telkki VV. Identification of extracellular nanoparticle subsets by nuclear magnetic resonance. Chem Sci. 2021; 12(24):8311-8319. https://doi.org/10.1039/D1SC01402A
- Bart G, Fischer D, Samoylenko A, Zhyvolozhnyi A, Stehantsev P, Miinalainen I, Kaakinen M, Nurmi T, Singh P, Kosamo S, Rannaste L, Viitala S, Hiltunen J, Vainio SJ. Characterization of nucleic acids from extracellular vesicle-enriched human sweat. BMC Genomics. 2021; 22(1):425. https://doi.org/10.1186/s12864-021-07733-9
- Zhyvolozhnyi A. Yu., Horak I. R., Skaterna T. D., Khudiakova O. V., Vainio S. J., Samoylenko A. A., Drobot L. B. Composition of EVs markers under normoxic and hypoxic conditions is dependent on the expression level of adaptor protein Ruk/CIN85 in mouse renal carcinoma Renca cells. Biopolym. Cell. 2021; .38(4):325-334 DOI: http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A5E

- Zhyvolozhnyi A. Yu., Samoylenko A. A., Horak I. R., Hudkova O. O., Gomozkova M. O., Vainio S. J., Drobot L. B. Extracellular vesicles produced by mouse breast adenocarcinoma 4T1 cells with up- or down-regulation of adaptor protein Ruk/CIN85 differentially modulate the biological properties of 4t1 WT cells. Ukr. Biochem. J. 2021; 93(6):46-54 https://doi.org/10.15407/ubj93.06.046

Наукова (науково-технічна) продукція: методи, теорії, гіпотези

Соціально-економічна спрямованість: поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Впровадження не планується

Зв'язок з науковими темами: № державної реєстрації 0117U004344 № державної реєстрації 0120U002191

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дробот Людмила Борисівна
2. Liudmyla B. Drobot

Кваліфікація: д.б.н., професор, 03.00.11

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Самойленко Анатолій Анатолійович
2. Anatoliy A. Samoylenko

Кваліфікація: д. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.04

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Додаткова інформація: Pentti Kaiteran katu 1, 90570 Oulu, Финляндия

Повне найменування юридичної особи: Університет Оулу, Фінляндія

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження: Pentti Kaiteran katu 1, 90570 Oulu, Фінляндія, Оулу, 90014, Фінляндія

Форма власності: Державна

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Університетський

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Клись Юлія Григорівна
2. Klys Yuliia G.

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут отоларингології ім. проф. О. С. Коломійченка Національної академії медичних наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02011870

Місцезнаходження: вул. Зоологічна, буд. 3, Київ, 03680, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія медичних наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Козировська Наталія Олексіївна
2. Natalia A. Kozyrovska

Кваліфікація: к.б.н., с.н.с., 03.00.03

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тихомиров Артем Олександрович
2. Artem O. Tykhomyrov

Кваліфікація: д. б. н., с.н.с., 03.00.04

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Колибо Денис Володимирович
2. Denys V. Kolybo

Кваліфікація: д.б.н., професор, 03.00.03

Ідентифікатор ORCHID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Матишевська Ольга Павлівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Матишевська Ольга Павлівна
Відповідальний за підготовку облікових документів	Черниш Ірина Григорівна
Реєстратор	УкрІНТЕІ
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна