Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0421U101992

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 24-05-2021

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Нідоєва Заріна Манзаршівна
2. Nidoieva Zarina M

Кваліфікація: 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.22

Назва наукової спеціальності: Молекулярна генетика

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 27-04-2021

Спеціальність за освітою: хімія

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 26.237.01

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

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

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.15.23

Тема дисертації:

1. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНА MGMT ЛЮДИНИ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ КОМПЛЕКСНОЇ ТЕРАПІЇ ОНКОХВОРИХ

2. Regulation of human MGMT gene expression by biologically active substances of complex therapy of cancer patients.

Реферат:

1. Вплив зовнішніх факторів і внутрішніх продуктів метаболізму створюють сприятливе середовище для алкілування ДНК [1], зокрема атомів O6-гуаніну. Захист клітини від такого пошкодження здійснює фермент O6-метилгуанін-ДНК метилтрансфераза (MGMT). Його функція в клітині полягає у відновленні нативної структури ДНК в ході необоротної та суїцидальної реакції перенесення алькільного залишку з O6-гуаніну ДНК на свій залишок цистеїну в активному центрі фермента. Це захищає клітини від такого цитотоксичного, канцерогенного та онкогенного пошкодження, як алкілування ДНК, збереження та передачу правильної, незміненої генетичної інформації при поділі клітин. Нерепарований O6-метилгуанін є причиною точкових мутацій через невідповідне спарювання з тиміном під час реплікації, що призводить до трансзиції G:C □ A:T

[2]. Значна кількість таких помилок негативно впливає на життєздатність клітини та може призводити до її смерті [3]. Тож експресія цього білка в клітинах є дуже важливою. З іншого боку, в клітинах пухлин MGMT обмежує ефективність алкілувальної хіміотерапії. Тому йде пошук факторів, що впливають на експресію MGMT або на модуляцію активності його білкового продукту, цьому питанню щорічно присвячується немало статтей. Відомо, що експресія MGMT значно варіює, проте причини такої варіації точно не встановлені. Показано, що синтетичний глюкокортикоїд дексаметазон, який використовується для зняття запалень та набряків в післяопераційний період, спричиняє зростання рівня експресії MGMT в клітинах [4], тому одночасне або наступне використання алкілувальної хіміотерапії буде малоефективним. Вплив інших препаратів, що використовуються при терапії низки онкозахворювань, на рівень експресії даного гена не відомий. Щоб дізнатися, чи можуть речовини, які використовуються при гормоно- та імунотерапії, впливати на експресію гена MGMT, ми дослідили його промоторну ділянку на наявність цис-регуляторних послідовностей. Ми виявили нові потенційні елементи відгуку, зокрема на стероїдні гормони та на низку рецепторів інших біологічно активних речовин. Найпершими для перевірки є елементи відгуку на естрогени та прогестерон, оскільки ці гормони є важливими при лікуванні гормоночутливих пухлин. Тож дані щодо їх впливу на один із обмежуючих факторів алкілувальної хіміотерапії може допомогти в плануванні коректної ефективної терапії пацієнта. Перевіряючи вплив цих гормонів на експресію MGMT in vitro, ми виявили що і □-естрадіол, і прогестерон позитивно регулюють як кількість транскрипту даного гена, так і кількість білкового продукту. Проте надати чітку відповідь, чи дана регуляція відбувається через елемент відгуку в промоторі чи через мембранний рецептор, ми наразі не можемо і це питання потребує подальших досліджень. Ми також перевірили вплив рекомбінантного інтерферону □2□, синтезованого в трансгенних рослинах N. benthamiana, на кількість білку MGMT в клітинах лінії E8 непухлинного походження та у клітинах HEp-2 пухлинного походження. Ми виявили тенденцію даного інтерферону знижувати кількість білка MGMT в досліджених клітинах, проте порівняно з клітинами пухлинного походження HEp-2, даний ефект в клітинах E8 був слабкішим і спостерігався лише при двох найбільших із досліджених концентрацій інтерферону 200 та 2000 МО/мл. Таким чином, нами вперше виявлено інгібувальний ефект рекомбінантного інтерферону □2□, синтезованого у рослинах N. benthamiana, на експресію репаративного ензиму MGMT в клітинах людини й встановлено, що цей інгібувальний ефект був виразнішим у пухлинних клітинах порівняно з клітинами непухлинного походження. Ми запропонували механізм такого ефекту через вплив інтерферону на транскрипційний фактор NF-□B, який позитивно регулює експресію MGMT через елемент відгуку в промоторі [5]. Оскільки, щоб подолати ефект резистентності клітин пухлини до хіміотерапії, можна не лише впливати на кількість білка чи мРНК, але й на активність самого фермента, ми біоінформатично дослідили також потенційну можливість зміни активності білка MGMT за рахунок певних післятрансляційних модифікацій. Ми виявили численні потенційні сайти ацетилування, убіквітинування, SUMOїлування та фосфорилування. Також ще одним перспективним методом зниження кількості MGMT в клітинах пухлин при хіміотерапії є використання інгібіторів цього ферменту. O6-бензилгуанін та O6(4-бромотієніл)гуанін (Lomeguatrib) в поєднанні з різними алкілувальними речовинами проходять II, III стадії клінічних досліджень в лікуванні стійких до темозоломіду чи кармустину пухлин [6,7,8]. Проте ці інгібітори мають токсичні побічні впливи, тож розробка та тестування нових, менш токсичних інгібіторів є актуальними. Тож ми дослідили низку низькомолекулярних ненуклеозидних органічних сполук (розроблені і синтезовані у відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАНУ) щодо їх здатності зменшувати кількість ферменту MGMT в клітинах in vitro та виявили декілька найперспективніших потенційних інгібіторів MGMT.

2. The exogenous factors and the endogenous metabolic products can generate reactive species for DNA alkylation [1], O6-guanine in particular. The MGMT enzyme protects cells from such disorders. It functions in cells to restore the native DNA structure in a one-step irreversible and suicidal reaction by transfering the alkyl group from the Oxygen in the DNA to a cysteine residue in the catalytic pocket of MGMT. This protects cells from cytotoxic, carcinogenic and oncogenic DNA alkylation lesions, allowing preservation and transmission of correct and unaltered genetic information during cell division. An unrepaired O6-methylguanine causes point mutations due to mis-pair with thymine during replication, leading to G: C □ A: T transition [2]. Significant number of such errors

could affect the cell viability and lead to cell death [3]. Therefore, the expression of this protein in cells is crucial. On the other hand, the MGMT expressed in tumor cells limits the effectiveness of alkylating chemotherapy. Thus there is a demand for MGMT expression regulators or for the modulators of its protein product activity, and many articles are devoted to this issue every year. It is known that the MGMT expression varies considerably, but the reasons for this variation are not well established. It has been shown that the synthetic glucocorticoid dexamethasone, which is used to relieve inflammation and edema in the postoperative period, activates MGMT expression [4]. Thus the effectiveness of the concomitant or subsequent alkylating chemotherapy is significantly reduced. It is unknown how the other drugs used in the cancer treatment influence on the MGMT expression. Combination of the chemotherapy and the hormone- and immunotherapy is widely-used for the treatment of many types of cancer. However, a little is known about effects of these drugs on the MGMT expression. Therefore, we analysed the MGMT promoter region for the cis-regulatory elements. We predicted novel potential hormone response elements, including such for steroid hormones and thyroid hormone receptor-like factors. The first to be tested are estrogen response elements and progesterone response elements, as these hormones are important in the treatment of hormone-sensitive tumors. Therefore, the knowledge about the effect of these hormones on the MGMT as one of the alkylating chemotherapy limiting factor could help to plan the correct and effective treatment for the patient. We found that both □-estradiol and progesterone positively regulate MGMT expression in vitro on mRNA and protein level. However, we cannot provide a clear answer as to whether this regulation occurs through the cis-regulatory element in the promoter or through the membrane receptor. This question needs further study. We investigated the influence of the recombinant interferon □2□ synthesized in transgenic plants N. benthamiana on MGMT quantity in both cancer (HEp-2) and non-cancer (E8) originated human cells. We found that the interferon □2□ tended to reduce the amount of MGMT protein in all the cells studied. However, compared to tumor HEp-2 cells, this effect was weaker in E8 cells and was observed only at the two highest interferon concentrations. Thus, we first identified inhibitory effect of the recombinant interferon □2□ (synthesized in plants N. benthamiana) on the expression of the DNA repair enzyme MGMT in human cells. We revealed that the effect of inhibition by interferon □2□ was stronger in cancer cells than in non-cancer cells. We proposed a mechanism of this effect. In particular, interferon □2□ inhibits MGMT through NF-□B transcription factor, which positively regulates the MGMT expression through the response element in the promoter [5]. To limit the tumor cell resistance to chemotherapy it is possible not only affect the MGMT protein or mRNA amount, but also the activity of the enzyme itself. So, by using bioinformatics we investigated the possibility to alter the MGMT protein activity by certain post-translational modifications. We found numerous potential sites of acetylation, ubiquitination, SUMOylation, and phosphorylation within the protein molecule. Also another promising method for reducing the MGMT amount in tumor cells during chemotherapy is the use of enzyme inhibitors. O6-benzylguanine and O6 (4-bromothienyl) guanine (Lomeguatrib) in combination with various alkylating agents are undergoing stage II and III clinical trials to treat temozolomide- or carmustine-resistant tumors [6,7,8]. However, these inhibitors have toxic side effects, so the development and testing of new less toxic inhibitors are relevant. Therefore, we investigated a number of low molecular weight non-nucleoside organic compaunds (designed and synthesized in the Department of Biomedicinal Chemistry of the Institute of Molecular Biology and Genetics of NASU) for their ability to reduce the amount of MGMT enzyme in cells in vitro and identified some of the most promising potential MGMT inhibitors

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Яцишина Анна Петрівна

2. Yatsyshyna Anna P

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сиволоб Андрій Володимирович

2. Sivolob Andrei V

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Ніжерадзе Костянтин Олексійович

2. Nizheradze Konstantin O

Кваліфікація: к. б. н., 14.01.14

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Телєгєєв Геннадій Дмитрович

2. Telegeev Gennadiy D.

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Хоруженко Антоніа Іванівна

2. Khoruzhenko Antonina I.

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Єльська Ганна Валентинівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Кунах Віктор Анатолійович
Відповідальний за підготовку облікових документів	
Реєстратор	
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Т.А.