Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0826U003306

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 09-07-2026

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Мазов Андрій Валерійович

2. Andrii V. Mazov

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID 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 галузі 09 Біологія, спеціалізація 091 Біологія

Дата захисту: 03-09-2026

Спеціальність за освітою: Біологія

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): PhD 15389

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

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, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.15

Тема дисертації:

1. Особливості функціональних взаємозв'язків між ізоформами естрогенового рецетора ESR1 та ізоформами кінази рибосомного білка S6 (S6K1) в клітинах карциноми грудної залози людини MCF-7

2. Functional relationships between estrogen receptor ESR1 isoforms and ribosomal protein S6 kinase (S6K1) isoforms in human breast carcinoma MCF-7 cells

Реферат/анотація:

1. Дисертація присвячена дослідженню взаємозв'язку між функціональною активністю ізоформ естрогенового рецептора ESR1 та кінази рибосомного білка S6K1 у клітинах карциноми грудної залози MCF7. Створено та охарактеризовано поліклональні антитіла миші до ESR1 людини. Як антиген використовували два рекомбінантні білки з таговою послідовністю (6xHis) для афінної очистки: пептид N-кінцевого фрагмента (1-120 а.к.) та повнорозмірний протеїн ESR1. N-кінцевий фрагмент виявився неімуногенним, натомість імунізація повнорозмірною формою дозволила отримати антитіла, ефективні для імунопреципітації. Копреципітація з анти-ESR1 та анти-S6K1 (C-кінцевими) антитілами не виявила утворення мультиензимного комплексу. Для дослідження ролі ізоформ ESR1 у регуляції S6K1 методом CRISPR/Cas9 (вектор pSpCas9(BB)-

2A-Puro (PX459) V2.0, таргетинг 1-го екзону) та селекцією зеоцином створено сублінії MCF7 з диференційною експресією ESR1. Сублінія MCF7/9 має повне пригнічення головної ізоформи p66/ESR1 і часткове збереження мінорної p36/ESR1. У сублінії MCF7/12 встановлено 50% пригнічення p66/ESR1 та кількаразове підвищення мінорної ізоформи p46/ESR1, що є компенсаторним механізмом через підвищення рівня транскрипції мРНК ESR1 (за даними ПЛР у реальному часі). Перевірка гіпотези про ініціацію епітеліально-мезенхимного переходу (EMT) сублінією MCF7/9 (аналіз маркерів CDH1, CDH2, Vim) не виявила ознак EMT. Натомість повне пригнічення p66/ESR1 призвело до зниження активності S6K1 (пригнічення фосфорилювання за сайтом Ser389), що пов'язано із загальним зменшенням експресії протеїну та мРНК S6K1. Отримані дані свідчать, що ESR1 є транскрипційним активатором S6K1, а його пригнічення корелює з гальмуванням S6K1-залежного сигналювання. Зниження S6K1 у MCF7/9 негативно впливало на проліферацію клітин. Водночас зміни ESR1 пригнічували міграцію клітин (зі статистично значущою різницею для MCF7/9), що вказує на причетність p66/ESR1 до цього процесу, імовірно завдяки пригніченню S6K1-залежного сигналювання. Вперше досліджено роль ізоформ S6K1 у регуляції фосфорилювання ESR1 за залишками Ser167 та Ser118. На модельних сублініях MCF7 з відновленою експресією окремих ізоформ S6K1 показано, що експресія p70 та p60 суттєво підвищує фосфорилювання ESR1 за Ser167, тоді як p85 не має впливу. Аналіз фосфорилювання за Ser118 виявив, що навпаки, експресія p85 сприяє його підвищенню, а p60 чи p70 не впливають. Створено мутантні сублінії MCF7 з мімікрією сайту (Ser167Asp) та блокуванням (Ser167Ala). Вперше встановлено, що фосфорилювання Ser167 не має регуляторної ролі в активації S6K1. Вперше визначено особливості експресії ізоформ S6K1 у пухлинах грудної залози людини. Виявлено підвищення експресії p70 та p85 у люмінальних А- і Б-типах, та їхнє пригнічення у потрійно-негативному типі. Вперше у пухлинах усіх молекулярних субтипів виявлено пригнічення експресії мРНК ізоформи p60S6K1 порівняно з умовно-нормальною тканиною. Встановлено спільну динаміку змін експресії ESR1 та ізоформ S6K1 в усіх досліджуваних типах пухлин. Визначення функціональних зв'язків ESR1 та S6K1 відкриває нові можливості для пошуку мішеней у терапії раку грудної залози та розуміння молекулярних механізмів набутої резистентності, пов'язаної з активацією каскаду mTOR/S6K1. Оскільки ізоформи p70 та p60 фосфорилюють ESR1 за Ser167, а p85 впливає на критичний для зв'язування з ДНК сайт Ser118, ці ізоформи є перспективними терапевтичними мішеннями. Створені моделі клітин MCF7 стануть основою для подальшого поглибленого аналізу молекулярних механізмів регуляції ESR1.

2. The dissertation is devoted to investigating the relationship between the functional activity of estrogen receptor ESR1 isoforms and ribosomal protein S6 kinase S6K1 isoforms in human MCF7 breast carcinoma cells. Murine polyclonal antibodies against human ESR1 were generated and characterized. Two recombinant proteins with a (6xHis) tag for affinity purification were used as antigens: a peptide containing the N-terminal fragment (1-120 aa) and the full-length ESR1 protein. The N-terminal fragment proved to be non-immunogenic, whereas immunization with the full-length form yielded antibodies effective for immunoprecipitation. Co-immunoprecipitation using anti-ESR1 and anti-S6K1 (C-terminal) antibodies did not reveal the formation of a multienzyme complex. To investigate the role of ESR1 isoforms in S6K1 regulation, MCF7 sublines with differential ESR1 expression were generated using the CRISPR/Cas9 system (pSpCas9(BB)-2A-Puro (PX459) V2.0 vector, targeting the first exon) followed by zeocin selection. The MCF7/9 subline exhibits complete knockdown of the major p66/ESR1 isoform and partial preservation of the minor p36/ESR1 isoform. In the MCF7/12 subline, a 50% reduction in p66/ESR1 and a several-fold increase in the minor p46/ESR1 isoform were observed, representing a compensatory mechanism driven by increased ESR1 mRNA transcription levels, as confirmed by real-time PCR. Testing the hypothesis regarding the initiation of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in the MCF7/9 subline (analysis of CDH1, CDH2, and Vim markers) revealed no signs of EMT. Instead, complete knockdown of p66/ESR1 led to decreased S6K1 activity (reduced phosphorylation at the Ser389 site), which was associated with an overall decrease in S6K1 protein and mRNA expression. These data indicate that ESR1 acts as a transcriptional activator of S6K1, and its suppression correlates with the inhibition of S6K1-dependent signaling. Reduced S6K1 levels in MCF7/9 negatively affected cell proliferation. Meanwhile, alterations in ESR1 suppressed cell migration (with a statistically significant difference in MCF7/9), indicating the involvement of p66/ESR1 in this process, likely through the inhibition of

S6K1-dependent signaling. For the first time, the role of S6K1 isoforms in regulating ESR1 phosphorylation at residues Ser167 and Ser118 was investigated. Using model MCF7 sublines with restored expression of individual S6K1 isoforms, it was shown that the expression of p70 and p60 significantly increases ESR1 phosphorylation at Ser167, whereas p85 has no effect. Analysis of phosphorylation at Ser118 revealed the opposite: p85 expression promoted its increase, while p60 or p70 had no effect. Mutant MCF7 sublines with phosphorylation site mimicry (Ser167Asp) and blockade (Ser167Ala) were generated. For the first time, it was established that Ser167 phosphorylation does not play a regulatory role in S6K1 activation. For the first time, the expression patterns of S6K1 isoforms in human breast tumors were determined. Increased expression of p70 and p85 was revealed in luminal A and B types, while their suppression was observed in the triple-negative type. For the first time, suppression of p60 S6K1 mRNA expression was detected in tumors of all molecular subtypes compared to conditionally normal breast tissue. A common dynamic of changes in the expression of ESR1 and S6K1 isoforms was established across all investigated tumor types. Elucidating the functional relationships between ESR1 and S6K1 opens new opportunities for identifying therapeutic targets in breast cancer treatment and understanding the molecular mechanisms of acquired resistance associated with the activation of the mTOR/S6K1 cascade. Since the p70 and p60 isoforms phosphorylate ESR1 at Ser167, and p85 affects the DNA-binding critical site Ser118, these isoforms represent promising therapeutic targets. The generated MCF7 cell models will serve as a foundation for further in-depth analysis of the molecular mechanisms regulating ESR1.

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: Теоретичне узагальнення і вирішення важливої наукової проблеми

Публікації:

- L. O. Savins'ka, S. A. Kvitchenko, S.S. Palchevskyi, 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.
- L.O. Savinska, S.A. Kvitchenko, M.Ye. Martsynyuk, I.V. Kroupskaya, 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.
- A.V. Mazov, I. V. Kroupskaya. Generation and characterization of polyclonal antibodies specific to human estrogen receptor ERα. Biotechnologia Acta T. 17, No. 3, 2024, P. 59-65.
- A. V. Mazov Differential effects of S6K1 isoforms on EMT-related gene expression in MCF-7 cells. Proceedings of the XVI Annual Conference of Young Scientists of the Institute of Molecular Biology and Genetics (Kyiv, 2021). Biopolymers and Cell. 2021. Vol. 37. N3.
- A.V. Mazov, I.V. Kroupskaya,, V.V Filonenko. Expression features of S6K1 isoforms at the mRNA level in human breast tumors of different molecular subtypes. Proceedings of the XX Annual Conference of Young Scientists of the Institute of Molecular Biology and Genetics (Kyiv, 2026). Abstract book.

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: 0110U000692, 0121U109973

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Філоненко Валерій Вікторович

2. Valeriy V. Filonenko

Кваліфікація: д. б. н., професор, академік НАН України, 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0009-0001-6480-0619

Додаткова інформація: https://scholar.google.com.ua/citations?user=IOd9BsIAAAAJ&hl=uk

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дробот Людмила Борисівна

2. Liudmyla B. Drobot

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-3711-2909

Додаткова інформація:

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

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, Київ, 01054, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шлапацька Лариса Миколаївна

2. Larysa M. Shlapatska

Кваліфікація: к. б. н., с.н.с., 14.01.07

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-3671-9036

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05416946

Місцезнаходження: вул. Васильківська, Київ, 03022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кашуба Володимир Іванович
2. Volodymyr I. Kashuba

Кваліфікація: д. б. н., професор, член-кор. НАН України, 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0009-0000-2850-0443

Додаткова інформація: Scopus ID:34770221200

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кропивко Сергій Вікторович
2. Serhii V. Kropyvko

Кваліфікація: к. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-2685-080X

Додаткова інформація:

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

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

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Телегеєв Геннадій Дмитрович
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Телегеєв Геннадій Дмитрович
Відповідальний за підготовку облікових документів	Крупська І.В.
Реєстратор	Юрченко Тетяна Анатоліївна
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна