

ВІДГУК

на дисертаційну роботу

СОБОЛЕВСЬКОГО МАКСИМА СЕРГІЙОВИЧА

на тему «Розробка високочутливої біосенсорної системи на основі посиленого наночастинками золота поверхневого плазмонного резонансу для аналізу ДНК-маркера хронічної мієлоїдної лейкемії»,
представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії
в галузі знань **09 - біологія**
за спеціальністю **091- біологія**

Актуальність теми. Онкологічні захворювання становлять складну багатофакторну групу патологій і залишаються однією з основних причин смертності у світі. Ефективність лікування злоякісних новоутворень суттєво обмежена різними факторами, зокрема такими як розвиток лікарської резистентності, токсичністю препаратів, складними побічними ефектами, що спричиняє гостру потребу у пошуку нових підходів до терапії та діагностики. Лейкемії займають перше місце серед захворювань кровотворної і лімфоїдної тканин людини. Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) – це клональне мієлопроліферативне захворювання, що характеризується трансформацією та проліферацією гемопоетичних стовбурових клітин. Розвиток ХМЛ зумовлений появою філадельфійської (Ph+) хромосоми, що кодує онкоген Bcr-Abl. У результаті неконтрольованої тирозинкіназної активності онкобілок Bcr-Abl порушує процеси проліферації та диференціації клітин, знижує їхню чутливість до сигналів мікрооточення й апоптозу, що зрештою призводить до злоякісної трансформації гемопоетичних стовбурових клітин. Сучасні методи лікування ХМЛ полягають у використанні інгібіторів тирозинкінази, зокрема іматинібу, та його аналогів. Проте значна частина пацієнтів демонструє первинну або набуту резистентність до інгібіторів тирозинкінази, а прогресування захворювання від хронічної фази до бластної супроводжується істотним погіршенням відповіді на лікування та несприятливим прогнозом. Важливою складовою для успішної терапії є своєчасна та високоточна діагностика захворювання. У клінічній

практиці для діагностики ХМЛ застосовують цитогенетичні та молекулярно-генетичні методи, серед яких каріотипування, флуоресцентна гібридизація *in situ* (FISH) та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Незважаючи на високу інформативність цих методів, вони потребують відповідного лабораторного обладнання, спеціалізованої інфраструктури та можуть бути достатньо тривалими або технологічно складними. Тому розроблення альтернативних швидких, високочутливих і специфічних методів виявлення молекулярних маркерів ХМЛ є важливим напрямом сучасних біомедичних досліджень.

Наразі серед інших методів розробка біосенсорів має ряд переваг, зокрема, висока чутливість і специфічність аналізу, можливість безміткової детекції нуклеотидних послідовностей, отримання результатів у режимі реального часу, відносна простота проведення аналізу та можливість створення компактних і економічно ефективних діагностичних платформ. Таким чином, дисертаційна робота Соболевського М.С. присвячена розробці високочутливої біосенсорної системи для детекції ДНК-маркера ХМЛ є безумовно актуальною, має вагоме наукове і практичне значення.

Оцінка обґрунтованості наукових результатів, їх достовірність та новизна. Дисертаційна робота побудована логічно та послідовно, характеризується чіткою структурою, обґрунтованим вибором сучасних методичних підходів і достатнім обсягом експериментального матеріалу. Отримані результати ґрунтуються на значному масиві експериментальних даних, отриманих із використанням сучасних біофізичних, молекулярно-біологічних та біосенсорних методів дослідження, що забезпечує належний рівень достовірності та обґрунтованості сформульованих положень і висновків.

Наукова новизна роботи полягає у теоретичному обґрунтуванні та розробленні ППР-біосенсорної системи для високочутливої детекції олігонуклеотидного маркера *BCR-ABL* із використанням біофункціоналізованих наночастинок золота. Вперше запропоновано математичну модель для визначення параметрів ППР-сенсорів та обґрунтування ефективності їх застосування для детекції біомолекул різних розмірів. Розроблено методики

синтезу прецизійних наночастинок золота та їх функціоналізації ДНК-зондами, меркаптогексанолом і ліпоєвою кислотою, що забезпечило необхідні чутливість, селективність і колоїдну стабільність сенсорної системи. Основні технічні рішення захищено патентами України.

Запропонована біосенсорна система має низку переваг порівняно з традиційними методами аналізу, зокрема характеризується нижчою межею детекції, простотою проведення вимірювань, економічністю та перспективністю мініатюризації й автоматизації аналітичної процедури. Серед відомих біосенсорних підходів для виявлення ДНК-маркерів ХМЛ розроблена система вирізняється застосуванням високочутливої сендвіч-конструкції із наночастинок золота, що створює передумови для її інтеграції з різними типами фізичних перетворювачів біосенсорного сигналу, чутливих до присутності золотих наночастинок. Крім того, запропонований метод синтезу наночастинок золота орієнтований на практичне застосування в умовах обмеженого ресурсного забезпечення та дає змогу отримувати необхідні кількості монодисперсних наночастинок для проведення високоточних біосенсорних досліджень.

Отже, поставлене в дисертаційній роботі наукове завдання по створенню біосенсорної на основі посиленого наночастинками золота поверхневого плазмонного резонансу для аналізу ДНК-маркера ХМЛ виконано повністю, здобувач повною мірою оволодів методологією науковою методологією.

Оцінка змісту дисертації, її завершеність та дотримання академічної доброчесності. За своїм змістом дисертаційна робота здобувача Соболевського М. С. повністю відповідає вимогам, що висуваються до робіт, представлених на здобуття ступеня доктора філософії в галузі 09 – біологія зі спеціальності 091 – біологія та біохімія, Національній рамці класифікацій та напрямам досліджень відповідно до «Освітньо-наукової програми підготовки докторів філософії зі спеціальності 091 – Біологія та біохімія», яка проводиться в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України та акредитована Національним агентством із забезпечення якості вищої освіти.

Дисертаційна робота Соболевського М. С. є завершеною, цілісною, оригінальною науковою працею, виконаною самостійно, вона не містить ознак плагіату, фабрикації, фальсифікації чи компіляції, а також неправомірних запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають належні посилання на відповідне джерело.

Мова і стиль викладення результатів. Дисертаційна робота Соболевського М. С. написана українською мовою, побудована логічно та послідовно, має чітко визначену мету та завдання, добре висвітлені наукова новизна та практичне значення отриманих результатів. Робота складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів, експериментальної частини та обговорення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Загальний обсяг дисертації – 181 сторінок. Робота містить 45 рисунків і 5 таблиць. Список використаної літератури охоплює 149 найменувань.

У розділі «Огляд літератури» обґрунтовано переваги та недоліки сучасних методів, які використовуються для аналізу молекул ДНК. Особливу увагу приділено ДНК-біосенсорам, зокрема сенсорним системам на основі поверхневого плазмонного резонансу (ППР). Розглянуто механізми їх функціонування, аналітичні можливості та переваги порівняно з традиційними діагностичними методами. Окремий підрозділ присвячено молекулярно-генетичним основам розвитку ХМЛ та характеристиці сучасних методів її лабораторної діагностики. Узагальнено сучасні уявлення щодо перспектив використання наночастинок золота як функціональних компонентів ДНК-біосенсорних платформ для високочутливої детекції онкогена *BCR-ABL*.

У розділі «Матеріали і методи» детально описані методичні підходи, які були використані під час виконання дисертаційної роботи (спектрометрія, іммобілізація та гібридизація олігонуклеотидів у біосенсорній системі, дизайн біосенсорної системи, синтез та характеристика НЧЗ, формування зондових комплексів ДНК-НЧЗ та їх колоїдна стабілізація, методики вимірювання, формування зондових комплексів ДНК-НЧЗ та їх колоїдна стабілізація, програмне забезпечення, обробка результатів та статистична обробка даних).

У розділі «Результати та обговорення» представлені результати, які демонструють новий підхід до виявлення послідовності онкогена *BCR-ABL* за допомогою ППР-біосенсорної системи сендвіч-типу на основі гібридизації молекул ДНК. Оцінено вплив часу інкубації AuNP-SH-DP на відгук біосенсорної системи. Розроблена НЧЗ-вмісна ППР-біосенсорна система забезпечила межу детектування 80 пМ, що значно перевищує чутливість традиційного ППР-біосенсора, та лінійний діапазон виявлення мішені *BCR-ABL*, демонструючи перспективність для аналізу ДНК-маркера *BCR-ABL* у реальних біологічних зразках. Встановлено, що співвідношення оптичної густини неаггегованих наночастинок золота при 520 та 650 нм становило ≥ 20 , що свідчить про низький рівень їх агрегації. Показано, що наночастинки золота, модифіковані тіольованими олігонуклеотидами та блокуючими молекулами, характеризуються нижчим рівнем агрегації порівняно з наночастинками, модифікованими лише блокуючими молекулами, завдяки додатковій стеричній та електростатичній стабілізації. Соболевський М.С. здійснює узагальнення та комплексний аналіз отриманих результатів дослідження, формулює основні висновки та оцінює їх наукове значення. Наприкінці розділу систематизовано ключові результати роботи та окреслено перспективні напрями подальших досліджень.

Висновки роботи сформульовані чітко, логічно та обґрунтовано, повною мірою відповідають визначеним меті й завданням дисертаційного дослідження та відображають основні отримані результати.

Дисертаційна робота оформлена відповідно до вимог наказу МОН України від 12 січня 2017 року №40 «Про оформлення вимог до захисту дисертації».

Оприлюднення результатів дисертаційної роботи. Результати дисертаційної роботи відображено у 5 статтях видань, які опубліковані у фахових відчизняних та закордонних виданнях, що індексуються міжнародними наукометричними базами даних Web of Science Core Collection та Scopus та 9 тезах доповідей на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях. За матеріалами дисертаційної роботи оформлено 3 патенти, що засвідчують практичну та прикладну значущість отриманих результатів.

Недоліки та зауваження до дисертаційної роботи. Під час рецензування роботи я не виявила недоліків, які б впливали на наукову цінність дисертації Соболевського М.С. Проте у порядку дискусії хотілося б обговорити деякі загальні питання, які виникли під час ознайомлення з роботою:

1. Наскільки стабільними є наночастинок золота під час зберігання та використання? Які фактори можуть вплинути на відтворюваність результатів біосенсорного аналізу?

2. Чи може запропонована біосенсорна система бути використана не лише для первинного виявлення молекулярного маркера ХМЛ, а й для моніторингу молекулярної відповіді пацієнта на терапію?

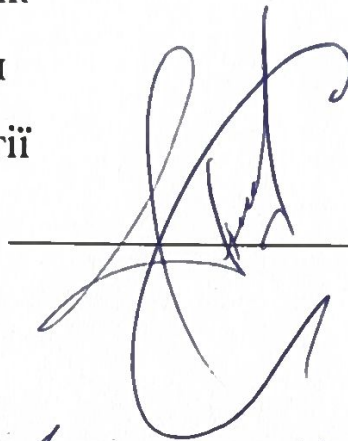
3. Відомо, що прогресування ХМЛ від хронічної фази до фази акселерації та бластної кризи супроводжується накопиченням додаткових генетичних порушень. Чи може запропонована біосенсорна платформа бути адаптована для одночасної або послідовної детекції інших генетичних змін, пов'язаних із прогресуванням ХМЛ?

Проте, представлені питання не впливають на загальну позитивну оцінку даної роботи.

Висновок про дисертаційну роботу. Дисертаційна робота здобувача ступеня доктора філософії Соболевського Максима Сергійовича на тему **«Розробка високочутливої біосенсорної системи на основі посиленого наночастинками золота поверхневого плазмонного резонансу для аналізу ДНК-маркера хронічної мієлоїдної лейкемії»** виконана на високому науковому рівні, не порушує принципів академічної доброчесності, є самостійною, цілісною, закінченою науковою працею. Актуальність обраної теми дослідження, обґрунтованість наукових положень та висновків, наукова новизна одержаних результатів повнота їхнього викладу в опублікованих працях підтверджують, що автор виконав дане дослідження на належному високому рівні. Дисертаційна робота за своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів повністю відповідає вимогам чинного законодавства України, що передбачені у пункті 6-9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення

разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44. Вважаю, що здобувач, Соболевський Максим Сергійович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 - Біологія, за спеціальністю 091 - Біологія.

Кандидат біологічних наук,
старший дослідник,
старший науковий співробітник
відділу молекулярної генетики
Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України



Антоненко С.В.

М.П.

«1» вересня 2026 р.

