

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Данченко Максима Миколайовича "Зміни протеому насіння в умовах чорнобильської зони відчуження", поданої до спеціалізованої вченої ради К 26.202.01 Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) зі спеціальності 03.00.01 "Радіобіологія"

На територіях, що зазнали впливу радіонуклідного забруднення після аварії на ЧАЕС у 1986 році, з'явилась унікальна можливість вивчати за великою кількістю показників довготривалі екологічні та біологічні наслідки опромінення що притаманні різним представникам біоти. Зареєстровані зміни, які відбуваються в біологічних об'єктах та їх угрупованнях, вказують і на можливість прискорення мутаційних та мікроеволюційних процесів на рівні окремих опромінених особин, і на зміни на рівні екосистем. Рослинні та тваринні організми, які мешкають на забруднених радіонуклідами територіях, показують також приклади адаптації до фактора опромінення, при цьому велика роль і поясненні феномену такої адаптації відводиться епігенетичним механізмам регуляції активності геному.

Класична радіобіологія виявилась не готовою до чіткого пояснення та прогнозування наслідків дії радіації після Чорнобильської катастрофи. В останні роки отримано багато різних експериментальних результатів, що свідчать про високу біологічну ефективність опромінення в малих дозах та про нелінійний характер залежності доза-ефект в діапазоні дії малих рівнів радіації. Коректна оцінка генетичних ризиків у цьому, найбільш важливому з практичної точки зору, діапазоні дозових навантажень, має базуватися на чіткому розумінні молекулярних і клітинних механізмів, що обумовлюють реакцію біологічних об'єктів на опромінення в малих дозах. Розвиток нових методів дослідження, поява різних 'омік'-технологій, поява системної біології, як інтегруючої дисципліни, що дозволяє по новому зрозуміти організацію і функціонування біологічних систем, значно розширили можливості сучасної радіаційної біології.

Дисертаційна робота Данченко Максима Миколайовича присвячена вивченню протеому рослин, що зазнали впливу опромінення в умовах Чорнобильської зони і є, напевно, першою узагальнюючою роботою, що вивчає та систематизує глобальні зміни у складі та вмісті білків в опромінених організмах. Тому актуальність і важливість самої дисертації не викликає сумнівів.

Використовуючи двовимірний гель електрофорез та методи біоінформатики, пошукач вперше проаналізував зміни, що стосуються декількох сотень білків у дозрілому насінні рослин сої та льону, яке розвивалось та формувалось в умовах радіонуклідного забруднення. Встановлено, що результатом розвитку рослин на забрудненій радіонуклідами ділянках, є зміни у складі та в співвідношенні білків, що належать до запасних білків, до групи білків, що відповідають за ріст клітин, стресових білках, у складі білків, які задіяні в первинному метаболізмі, групі білків-транспортів, та у білках, що задіяні у сигнальних системах і вторинному метаболізмі. Отримані результати є новими досить важливими для радіобіології, оскільки дозволяють більш повно зрозуміти, що саме відбувається в опромінених рослинних клітинах.

Дисертаційна робота Данченко М.М. написана на 159 стор. і складається з переліку скорочень, вступу, огляду літератури, розділів "Матеріали та методи" і "Результати та їх обговорення", розділу "Узагальнення", висновків і списку літератури.

Серед переліку скорочень виникають питання до того, як автор розшифровує скорочення НАДФН, та скорочує терміни "рибулозо біфосфат карбоксилаза оксигеназа", "двовимірний електрофорез", "молекулярна маса". – Ці терміни вже давно мають загальноприйняті скорочення та тлумачення і не варто придумувати нічого нового.

У розділі Вступ дисертант аргументує вибір теми для свого дослідження, визначає мету і завдання дослідження, дає опис методів, констатує новизну і практичне значення отриманих результатів, та наводить іншу формальну

інформацію (зв'язок за науковими темами відділу, апробація роботи список публікацій, тощо). Важливо, що результати, які наведені у дисертаційній роботі, оприлюднено у 8 публікаціях, включаючи 5 статей у рецензованих міжнародних журналах. Як коментар до цього цієї частини дисертації варто зауважити про таке – важко зрозуміти у який саме спосіб "Реалізований проект важливий для розробки майбутньої стратегії відновлення сільського господарства на забруднених радіонуклідами територіях для непродуктивних цілей, наприклад виробництва біопалива" ?

У розділі "Огляд літератури" дисертант досить ґрунтовно і багатосторонньо аналізує такі питання, як вплив антропогенного радіоактивного забруднення на довкілля, стрес та адаптація живих організмів до іонізуючого опромінення, а також наводить опис нових методів дослідження, що значно розширили потенціал сучасної радіобіології. Здійснений аналіз літератури свідчить про ерудицію автора у багатьох питаннях і, без сумніву, характеризує його як ентузіаста-дослідника, котрий щиро захоплений і переймається своєю роботою. Водночас, не зовсім зрозуміло, навіщо в огляді літератури наводиться Рис. 1.1. Рівні біологічного ураження викликані іонізуючою радіацією, оскільки посилання на нього в тексті відсутнє? Що стосується самого рисунку, то зауважу, що в підручниках з радіобіології наведено дещо іншу класифікацію етапів дії опромінення на живі організми, і яка відрізняється від запропонованої автором. Не зовсім зрозумілим є також Рис. 1.2. Контroversійний феномен адаптації рослин до генотоксичного стресу внаслідок хронічного опромінення, оскільки посилання на цей рисунок наводиться лише через 2 сторінки тексту, те ж саме стосується і рис.1.3, та багатьох інших ілюстрацій, що їх далі використовує автор у своїй дисертації.

У розділі Метеріали і методи пошукач описує як і де вирощувались експериментальні рослини, як вимірювалася радіоактивність, як виділялись і аналізувались білки. Автор досить детально інформує про методи аналізу білків, де він дійсно сильний, як професіонал. Водночас, така не менш важлива інформація, як розмір експериментальних ділянок і їх кількість,

кількість зібраного і проаналізованого насіння, як саме здійснювався розрахунок поглиненої дози опромінення залишились без відповіді. Зовсім незрозумілим є доцільність фотографій використаного лабораторного обладнання, які наводяться у цьому розділі.

У Розділі 3. Результати досліджень та їх обговорення автор аргументовано і достовірно показав, що хронічне опромінення в малих дозах змінює протеом насіння рослин сої та льону. Дуже імпонує бажання автора рухатися далі, ніж просто констатувати зміни білкового складу. Як узагальнення отриманих результатів, Данченко М.В. запропонував своє бачення шляхів метаболізму в опроміненому насінні, яке наведено на рис. 3.13. та 3.14. Таке широке бачення і тлумачення отриманих результатів, без сумніву, дуже імпонує. Водночас, є незрозумілим і не зовсім сприймається рис. 3.6. Візуалізація експериментальної стратегії вивчення протеому насіння та кількісних результатів та Рис. 3.10. Робоча модель реакції рослин на умови середовища зони відчуження на основі даних порівняльної протеоміки зрілого насіння сої, зібраного після одного року вирощування на забрудненій радіонуклідами та контрольній ділянках. – Що саме автор хотів сказати, включаючи ці рисунки в текст?

На жаль, відчуття недовершеності і не чіткого формулювання думки не залишає практично весь час, при ознайомленні з дисертацією М.Данченка. Наведу такі приклади з тексту: "Після 22 год інкубації насіння на вологих чашках Петрі, відсоток проростання між варіантами відрізнявся майже на 20 одиниць" (стор.79), або ж "Тим не менше, слід зазначити, що вплив іонізуючого випромінювання має помітний ефект на протеом насіння. Це припущення підтверджується результатами досліджень протеому ссавців при експериментальному опроміненні, що в цілому свідчить про адекватність проведеного нами аналізу" (стор 85).

Тому окремо хочу зауважити про стиль і мову, якою написано дисертацію та автореферат. Добре розумію, що автор вже довго знаходиться в іншому мовному середовищі і не має достатньої практики в усній та письмовій

українській мові, але і англійською, і будь-якою іншою мовою не прийнято писати так, як це робить пошукач.

За ілюстрацію наведу окремі дуже невдалі і незрозумілі, як на мою думку, вислови та речення з розділів Анотація та Розділу 1 (Огляд літератури): “Піруват декарбоксилаза і кетоацил синтаза мали схожі закономірності змін” (стор.4); “підвищену активність експресії генів із наслідками на синтез і пакування білків” (стор.5); “Досі в експертному середовищі відсутній консенсус, щодо деталей дії хронічного опромінення” (стор.21); “soя широко використовується у сільському господарстві через високу пропорцію вмісту білків у насінні” (стор.21); “Результатом порівняльного дослідження є список білків вміст яких зазнав змін за експериментальних умов” (стор.22); “системно проаналізувати функціональні зміни протеому рослин, обумовлені їх зростанням на забруднених радіонуклідами ґрунтах” (стор.23); “процес реакції сої” (стор.23); “інтегрувати отриману інформацію молекулярно-біологічних змін у теоретичні схеми реакцій сої та льону” (стор.23); “Функціональна анотація та встановлення субклітинної локалізації ідентифікованих білків за допомогою біоінформатичних алгоритмів” (стор.24); “Обсяг включає 155 сторінок тексту” (стор.26); “Радіонукліди спричиняють тривалий вплив на живі організми, тому що мають довгий період піврозпаду та високу біологічну доступність” (стор.29); “Цезій хімічно схожий до калію елемент” (стор.29); “Дослідження конкурентних взаємодій на ізольованих переносниках калію” (стор.29); “концентрацію радіонуклідів вимірювали у господарсько цінних частинах рослин” (стор.31); “Оскільки спостерігався легкий перехід радіоцезію через харчовий ланцюг у органи овець, була накладена заборона пасовищного використання мокрих і кислих ґрунтів (боліт)” (стор.32); “при низьких дозах виявлено ряд химерних нелінійних явищ, наприклад нестабільність геному або диференційну експресію генів” (стор.32); “Назагал, ефект забрудненого радіонуклідами довкілля на рослини виявився вищим у порівнянні з тваринами” (стор.33); “Дволанцюгові розриви в ДНК вважаються найбільш ймовірними кандидатами, що здатні заподіяти критичну шкоду” (стор.33);

“Ймовірним віддаленим наслідком дослідженого феномену будуть зміни на популяційному рівні, навіть за межами забрудненої зони” (стор.34); “перенесення живих створінь до іншого екотопу призводить до появи градієнту селективних стресових факторів” (стор.34); “Стрес – це реакція особини на стимул, що виходить за межі оптимуму для виду на даній фазі розвитку” (стор.34); “у нашому розумінні цієї властивості залишаються помітні прогалини” (стор.34); “Після первинного сприйняття, сигнали спрямовуються на каскади трансдукції, які їх ампліфікують і збуджують паралельні шляхи” (стор.34); “В рослинах, що є геномними моделями, присутня велика кількість генів” (стор.34); “Дані свідчать що на γ - та β -забруднених місцях відбувається адаптація, але на α -радіоактивних ділянках ні” (стор.35); “Інформація від повногеномних аналізів стійкості до стресу в майбутньому допоможе висвітлити мережу реакцій відповіді на стрес та, ймовірно, скерує цільові зміни для підвищення продуктивності рослин” (стор.37); “епігенетичні шляхи є одночасно як цілями програмованих реакцій так і наслідками уражень” (стор.38); “Експресія антиоксидантних ензимів за норми репресована у досліджених популяцій” (стор.39); “При двогодинній експозиції на X-променях чи мутагені імітуючому радіацію "Rose Bengal", спостерігались різні тренди змін вивчених генів” (стор.40); “Врахування попередньо опублікованих результатів на тютюні” (стор. 40); “Було використано мікросателітні маркери як типові соматичні мутації” (стор.42); “Сучасне розуміння адаптації до іонізуючої радіації має багато компонентів” (стор.44); “Запропонована в дисертаційній роботі експериментальна модель потрапляє в діапазон дії низьких доз” (стор.44); “Немішенні ефекти опосередковані фундаментальними механізмами клітинного гомеостазу” (стор.45); “на статистично детерміновані похибки методик накладається біологічна мінливість та пластичність рослинного організму” (стор.46); “У сучасності домінує бачення, що ключем інтегральної системної біології є феноміка – аналіз колекцій мутантів” (стор. 46); “Ключовим викликом моделювання мережевого аналізу потоків є те, що більшість біологічних систем мають індетерміністичний характер” (стор.47);

“інформація зашифрована у тисячах точок даних є поза людською здатністю інтуїтивної інтерпретації” (стор.47); “Сучасною необхідністю системної біології стало застосування біоінформатичних алгоритмів для інтерпретації великих масивів даних” (стор.47); “Головні знахідки в галузі нових ензимів відбуваються шляхом аналогій із типовими” (стор.48); “Першим кроком функціонального аналізу, зазвичай, є виявлення генних онтологій” (стор.49); “Повноти результатів можна досягти інтенсивним фракціонуванням протеому” (стор.50); “Достатню ортогональність проявляють наступні комбінації” (стор.51); “Для розуміння сигнальних шляхів рослин виникла потреба їх глобального дослідження” (стор.53); “У сучасності відбувається трансформація від банального опису живих систем до характеристики ПТМ” (стор.54); “Представлені дані є необхідною прелюдією для порівняння з протеомами насіння інших багатих олією рослин” (стор.55); “вплив зростання в радіоактивно забрудненому довкіллі на протеом буде помірним” (стор. 56); “Американськими дослідниками було проведено глибокий аналіз протеому насіння сої протягом дозрівання із використанням гелів” (стор.56); “Основною перешкодою для аналізу протеому льону є обмежені ресурси послідовностей геному” (стор.58). На жаль, подібні приклади у великій кількості зустрічаються по всьому тексту дисертації і, навіть у висновках самої роботи.

Ще одне зауваження, яке варто зробити на адресу дисертанта – автор не завжди підкріплює посиланням на відповідне літературне джерело свої дописи в тексті, де він використовує слова на кшталт ”показано” “встановлено”, ”відомо”, “опубліковано”, тощо. Це, зокрема, стосується тесту на стор. 30, 31, 35, 36, 37, 38,39,40, 42,43,44, 46 і т.д.

Всі ці зауваження мають формальний характер, не стосуються суті самої виконаної роботи та сформульованих висновків і спрямовані лише на те, щоб порадити дисертанту на майбутнє, як вдосконалити свою мову та впорядкувати хід думок і логіку висвітлення та інтерпретації отриманого експериментального матеріалу, оскільки рецензована робота є дійсно цікавим і оригінальним дослідженням.

Висновок: Автореферат відображає основні положення дисертації, сформульовані висновки – адекватні отриманим результатам і зробленому аналізу, всі основні результати дисертації опубліковані у 18 наукових працях, з яких: 5 статей у рецензованих міжнародних журналах, 1 розділ у книзі, 2 статті у матеріалах конференцій та тези 10 доповідей на конференціях.

Вважаю, що дисертаційна робота Данченко Максима Миколайовича "Зміни протеому насіння в умовах чорнобильської зони відчуження", є завершеною науковою працею, в якій вирішено важливе наукове питання про вплив хронічного опромінення на протеом рослин. За актуальністю, науковою новизною, методичним рівнем виконаного дослідження дисертація відповідає Вимогам до оформлення дисертацій, що затверджені Наказом міністерства освіти і науки України 12.01.2017, №40, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) зі спеціальності 03.00.01 "Радіобіологія".

20 червня 2017 року

Д.б.н., ст. н. сп.
Інституту харчової біотехнології
і геноміки НАН України

