

В І Д Г У К

**офіційного опонента
на дисертаційну роботу
СКОРОБОГАТОВА ОЛЕКСАНДРА ЮРІЙОВИЧА
“ВИВЧЕННЯ СТРУКТУРНИХ МЕХАНІЗМІВ
ВЗАЄМОДІЇ ДЕФОСФОРИЛЬОВАНИХ
2'-5'-ТРИАДЕНІЛАТІВ З БІЛКОМ S100A1 ”,
що подана на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук
(03.00.03 – молекулярна біологія)**

I.Актуальність обраної теми.

На теперішній час не викликає сумніву важлива роль олігоаденілатів для активації інтерферону. Фермент 2'-5'-олігоаденілатсинтетаза використовує внутрішньоклітинний пул АТФ для синтезу сполук – 2'-5'-олігоАп, які здатні гідролізувати вірусні та матричні РНК. При цьому здатність активувати фермент характерна лише для фосфорильованих олігоаденілатів, хоча клітинний пул 2'-5'-олігоАп також містить і дефосфорильовані олігоаденілати. Біологічна роль дефосфорильованих олігоаденілатів до кінця не з'ясована. Показано, що 2'-5'-А3 володіють вираженими антивірусними властивостями, а також можуть проявляти імуностимулюючу активність. Важливо, що 2'-5'-А3 впливає на процес скорочення судин гладеньких м'язів шляхом його взаємодії з кальмодуліном та S100A1 (ключовий Ca^{2+} -зв'язувальний білок). Однак залишається нез'ясованими особливості зв'язування S100A1 з 2'-5'-А3.

Усе викладене і визначає актуальність теми дисертаційної роботи Скоробогатова Олександра Юрійовича, присвяченої дослідженню структурних та функціональних змін білків S100A1, кальмодуліну та EGFP при їх взаємодії з 2'-5'-А3.

Компоненти аналізу цієї дисертаційної роботи опонентом, які дозволили мені скласти щодо неї, є стандартними.

1/. Звичайно, опонент читав текст дисертації та автореферату роботи.

2/. Перед написанням цього “Відгуку” мною були проаналізовані головні публікації дисертанта та його співавторів.

3/. Мало місце обговорення з дисертантом одержаних ним експериментальних результатів.

Отже, на підставі проведеного мною аналізу цієї дисертаційної роботи, та, відповідно до вимог ДАК МОН України, формулюю свої уявлення щодо найбільш важливих науково-теоретичних та практичних аспектів кандидатської дисертації Скоробогатова О.Ю.

II. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Ступінь надійності одержаного фактичного матеріалу, обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у роботі, є надійним. Ось складові, що гарантують цей високий ступінь:

1/. Коректне використання дисертантом сучасних експериментальних методів (розділ 2), які відповідали меті та задачам дослідження.

У методичному розділі також детально описані відповідні розчини та реактиви, які були використані під час виконання дисертаційної роботи.

Потрібно відзначити, що методична частина дисертації написана доброю науковою мовою.

2/. Сукупність якісного наукового фактичного матеріалу, який подано у суто експериментальній частині роботи (розділ 3 та 4). Викладання власних експериментальних результатів Скоробогатова О.Ю. органічно пов'язано з метою та завданнями дисертації, а також із ґрунтовним аналізом даних літератури. Логічно випливають із змісту роботи викладені у дисертації висновки та узагальнення. Усі наукові положення і висновки є цілком обґрунтованими і повністю узгоджуються із результатами власних досліджень.

3/. Надійна попередня апробація накопиченого фактичного матеріалу на різноманітних авторитетних наукових конференціях, симпозіумах та семінарах, а також на сторінках фахових наукових журналів. Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на конференції молодих науковців, аспірантів та студентів з молекулярної біології і генетики (2007 р., Київ, Україна); 8-ій Парнасівській конференції (2011 р., Варшава, Польща); конференції «Запобігання раку-2008» (2008 р., Санкт-Галлен, Швейцарія); 4-й міжнародній конференції для молодих вчених «Молекулярна біологія: поступ та перспективи» (2011 р., Київ, Україна); Тринадцятому міжнародному симпозіумі для аспірантів «Ритми життя: циклічність в біології» (2011 р., Гейдельберг, Німеччина);

Одинадцятому Українському біохімічному конгресі (2014 р., Київ, Україна).

Експериментальні результати дисертації висвітлені на сторінках фахових журналів (5 статей та 6 тез доповідей).

4/. Високий науково-теоретичний потенціал, притаманний дисертанту.

У дисертації проаналізовано велику кількість даних літератури – у рукопису наведені посилання на 195 друкованих робіт. Зокрема, було цікаво читати наступні розділи літературного огляду:

- Кальційнейрин як мішень циклоспорину;
- Ca^{2+} -зв'язуючі білки.

Взагалі огляд літератури добре обгрунтовує напрямок роботи дисертанта, основною метою якої є поглиблення знань про зміни співвідношення елементів вторинної структури та функціонального профілю досліджених білків S100A1 як наслідок їх зв'язування з 2'-5'-A3.

III. Достовірність і новизна наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Результати аналізу фактичних даних, які наведені у кандидатській дисертації Скоробогатова О.Ю., свідчать на користь того, що відповідні експериментальні результати є достовірними.

Новизна наукових положень, сформульованих у дисертації, полягає у наступному. Скоробогатов О.Ю., використовуючи адекватні мікробіологічні, молекулярно-біологічні, спектральні методи та метод комп'ютерного моделювання, одержав цікаві експериментальні дані щодо впливу 2'-5'-A3 на вторинну структуру, Ca^{2+} -зв'язуючу активність білка S100A1 та на активність ряду протеїніназ.

Автор вперше показав, що між 2'-5'-A3/2'-5'-A3-еро і S100A1 можливе утворення комплексу. Показано, що 2'-5'-A3 і 2'-5'-A3-еро здатні впливати на відсотковий склад вторинних елементів білка apo-S100A1 зменшенням альфа-спіральних елементів на 6 % і 5 % відповідно. При цьому наявність в реакційній суміші Ca^{2+} на ефект утворення комплексу 2'-5'-A3/2'-5'-A3-еро-S100A1 не впливала. Виявлено хімічні зсуви амінокислотних залишків в структурно та функціонально важливих ділянках білка S100A1. Вперше проведено комп'ютерне моделювання зв'язування 2'-5'-A3 з S100A1.

Одночасно вважаю за потрібне підкреслити наступне:

-для всього дисертаційного матеріалу властивий високий наочний рівень подання фактичних даних. Маю на увазі достатню кількість змістовних та інформативних у науковому відношенні рисунків (всього 20) та таблиць (5);

-у тексті роботи має місце змістовне та критичне обговорення дисертантом як літературних, так і власних експериментальних результатів;

-в цілому, як текст дисертації, так і текст автореферату, дуже добре написані, рукописи оформлені вельми акуратно.

Отже, відповідні експериментальні дані, які були одержані Скоробогатовим О.Ю. при виконанні дисертації, в науковому відношенні є змістовними і являють собою певний внесок у сучасну молекулярну біологію.

IV. Запитання, зауваження та рекомендації з боку опонента.

Слід зазначити, що дисертація написана дуже грамотно не лише з наукової, але й з орфографічної та стилістичної точки зору.

При знайомстві з матеріалами дисертації виникають певні питання та побажання, які варто було б врахувати у майбутній експериментальній роботі.

1. Наукова новизна описана дуже скорочено.

2. Огляд літератури, опис результатів містить підрозділи, назви яких не відображені у змісті.

3. Скорочення пишуть після першого згадування у тексті. Такі скорочення, як ПКС – протеїназа С; STOCs – спонтанні транзйентні вихідні струми немає у ПЕРЕЛІКУ УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.

4. Чисельні значення та їх розмірності (% , °C) треба писати окремо.

5. Назви реактивів краще писати формулою або повною назвою (в одному реченні зустрічаються формули і повні назви реактивів).

6. Погано читаються підписи осі ординат (інтенсивність флуоресценції) на графіках (ст. 52-53, 55-56).

7. Деякі стилістичні та граматичні помилки відмічено у тексті.

Втім, вищезазначені запитання та зауваження мають лише дискусійне значення і ніякою мірою не впливають на загальне позитивне враження від прочитаної роботи.

V.Повнота викладу наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в опублікованих працях та у дисертації.

Опонент стверджує, що наукові положення, висновки та рекомендації, які сформульовані у кандидатській дисертації та її авторефераті, достатньо повно викладені в опублікованих авторських друках Скоробогатова О.Ю.

VI.Щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Сукупно оцінюючи зміст кандидатської дисертації Скоробогатова О.Ю. необхідно відзначити цільність та завершеність його роботи в цілому. Зміст автореферату є ідентичним основним положенням, викладеним у тексті дисертаційної роботи. Вважаю, що оформлення дисертації та її автореферату відповідає вимогам, що встановлені ДАК МОН України. Кандидатська дисертація Скоробогатова О.Ю. цілком відповідає вимогам п.п. 9, 10, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету міністрів України №567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету міністрів України №656 від 19.08.2015 р., №1159 від 30.12.2015 р. та №567 від 27.07.2016 р.).

VII.Важливість для науки і практичне значення одержаних автором дисертації результатів. Рекомендації щодо їхнього використання.

У науково-теоретичному відношенні результати, що були одержані при виконанні дисертації, віддзеркалюють особистий внесок Скоробогатова О.Ю. у розвиток сучасних уявлень щодо структурних та функціональних змін білків S100A1, кальмодуліну та EGFP при їх взаємодії з 2'-5'-A3.

Щодо практичного аспекту, то цінність цієї роботи полягає у наступному.

Результати проведених досліджень із вивчення механізмів біологічної дії 2'-5'-олігоА поглиблюють існуючі уявлення про функції корових аденілатів.

Отримані в роботі дані можна використати для створення нових противірусних препаратів.

Необхідно відзначити, що дисертація, яка захищається, є закінченою науковою роботою.

VIII. Висновок.

Кандидатська дисертація Скоробогатова О.Ю. являє собою актуальне та оригінальне високоякісне фундаментальне дослідження у галузі молекулярної біології. Дійсно, при виконанні цієї роботи, виконаної на препаратах рекомбінантних білків S100A1, S100B, кальмодуліну, інсуліну, інтерферону, природного та епосі-модифікованого корових 2'-5'-A3, вдалося детально вивчити структурні та функціональні зміни білків S100A1, кальмодуліну та EGFP при їх взаємодії з 2'-5'-A3. Було отримано препарат рекомбінантного білка S100A1 людини високої чистоти. Вперше було описано можливість зв'язування 2'-5'-A3 з цілим рядом білків, серед яких Ca²⁺-зв'язуючі білки родини S100, кальмодулін, інтерферон, інсулін та деякі протеїнази. Показано, що така взаємодія не тільки призводить до змін вторинної структури досліджених білків, але й до змін їх активності. Вперше проведено комп'ютерне моделювання зв'язування 2'-5'-A3 з S100A1.

Таким чином, робота Скоробогатова О.Ю. цілком відповідає вимогам п.п. 9, 10, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету міністрів України №567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету міністрів України №656 від 19.08.2015 р., №1159 від 30.12.2015 р. та №567 від 27.07.2016 р.).

Що ж стосується дисертанта, то він, безперечно, є висококваліфікованим, здібним та перспективним молодим дослідником - спеціалістом із сучасної молекулярної біології, для нього є властивим хороший творчий та методичний потенціал, широкий науковий світогляд у галузі молекулярної біології та комп'ютерного моделювання, здатність до проведення цілеспрямованого наукового пошуку.

Тому, безсумнівно, за результатами своєї дисертаційної роботи Скоробогатов Олександр Юрійович цілком заслуговує на присудження йому наукового ступеня кандидата біологічних наук із спеціальності 03.00.03 – молекулярна біологія.

Офіційний опонент –
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
відділу біохімії м'язів
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України



Т.О.Векліч

19 листопада 2020 р.