

**Відгук офіційного опонента на дисертаційну роботу Д.О. Самофалової  
«Реконструкція просторової структури протеїнофосфатаз, задіяних в регуляції  
цитоскелету у рослин, та структурно-біологічні механізми їх взаємодії зі  
специфічними інгібіторами», представлену на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 - цитологія, клітинна  
біологія, гістологія**

Відомо, протеїнофосфатази разом з протеїніназами контролюють стан фосфорильованості білків, тим самим впливаючи на ріст, поділ, диференціювання і відмирання клітин в живих організмах. Є багато прикладів, які стосуються участі протеїнофосфатаз в механізмах клітинної сигналізації. Роль протеїнофосфатаз в мітотичних процесах часто пов'язується з регуляцією цитоскелету, зокрема, мікротрубочок, через вплив на активність білків, які входять до їх складу, в тому числі тубуліну. Однак, молекулярні механізми цих процесів багато в чому не з'ясовані, і не в останню чергу через значну кількість мало вивчених протеїнофосфатаз різних класів, функції яких є незамінними і досить специфічними. Особливо це стосується уявлень щодо властивостей протеїнофосфатаз рослинного походження, можливих механізмів регуляції їх активності, особливостей будови сайтів ліганд-білкової взаємодії, а також пошуку і вивчення ефективних і селективних інгібіторів цих ферментів. Немає сумніву, що тільки знання про просторову структуру протеїнофосфатаз рослинного походження, а також нові знання про закономірності впливу і можливі механізми дії природних і синтетичних інгібіторів на їх активність можуть забезпечити широкі дослідження цих ферментів та їх ролі в мережі сигнальних каскадів живих клітин. Тому тема дисертаційного дослідження Д.О. Самофалової, присвяченого реконструкції просторових структур протеїнофосфатаз, задіяних в регуляції цитоскелету у рослин, та структурно-біологічним механізмам їх взаємодії зі специфічними інгібіторами, є, безумовно, актуальною. Виконані дослідження були частиною планових науково-дослідних робіт ДУ «Інститут харчової

біотехнології і геноміки НАН України» в рамках двох бюджетних і однієї конкурсної тематики. Деякі етапи виконано в рамках роботи ВО С8ЬаЬOгісіI, що є частиною Українського Національного Гріду.

Метою дисертаційної роботи Д.О. Самофалової був пошук і біоінформаційний аналіз протеїнофосфатаз рослин, що впливають на структуру і функціонування мікротрубочок, реконструкція їх просторової будови та з'ясування можливих механізмів їх взаємодії з різними групами інгібіторів. Виходячи з цього, було поставлено ряд завдань, які включали порівняльний аналіз протеїнофосфатаз вищих рослин і тварин, оцінку і комп'ютерне моделювання властивостей ферментів, що пов'язані з регуляцією структури та функцій мікротрубочок, моделювання комплексів рослинних протеїнофосфатаз з різними за структурою інгібіторами.

Наукові положення, що обговорюються в дисертації, є обґрунтованими. Вони стосуються як порівняльного аналізу просторових структур рослинних і тваринних фосфатаз, так і закономірностей, що витікають з комп'ютерних розрахунків комплексоутворення з природними та синтетичними інгібіторами. У відповідності до основної ідеї та сформульованих завдань у дисертації подано огляд літератури, присвячений біологічним функціям протеїнофосфатаз, їх класифікації, структурі та взаємодії з відомими інгібіторами. Результати експериментальних досліджень та їх обговорення викладено в наступних чотирьох розділах, а в заключному розділі узагальнено отримані результати. В роботі добре систематизовано матеріал, отриманий з використанням різних методів, таких як метод парного та множинного вирівнювання амінокислотних послідовностей, методи профільного аналізу функціональних доменів та мотивів, методи комп'ютерного моделювання та верифікації просторової структури молекул, методи молекулярної механіки, метод моделювання молекулярної динаміки, методи молекулярного докінгу тощо.

Всі авторські формулювання щодо наукової новизни одержаних результатів є об'єктивними. Так, вперше реконструйовано повні фосфатоми рослин і проаналізовано еволюційну дивергенцію фосфатомів вищих рослин і людини. Вперше визначено групу рослинних гомологів тваринних протеїнофосфатаз, що належить до суперродин серин/треонін-, тирозин- та аспаратат-специфічних протеїнофосфатаз. Вперше встановлено структурно-молекулярні особливості взаємодії окремих інгібіторів з деякими протеїнофосфатазами рослин.

Практичне значення дисертаційної роботи Самофалової Д.О. полягає в розробці тривимірних моделей протеїнофосфатаз людини і представників одно- та дводольних рослин. Отримані дані щодо сайтів їх взаємодії з інгібіторами різної хімічної природи є важливими для подальшого пошуку і дизайну сполук, що можуть виявляти спорідненість до зазначених молекулярних мішеней і можуть знайти застосування як інгібітори протеїнофосфатаз рослинного походження. Слід зазначити, що результати проведених дисертантом досліджень були використані при викладанні спецкурсу «Біоінформатика» у Навчально-науковому центрі «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Принципових зауважень щодо дисертаційної роботи Д.О. Самофалової немає. Дисертація добре оформлена, проілюстрована необхідними рисунками і таблицями. Поряд з цим можна зазначити наступне. Текст дисертації дещо перевантажений. Загальним зауваженням до тексту є використання деяких не зовсім вдалих конструкцій у реченнях, а також формулювань та перекладених з англійської мови виразів. Ряд незначних помилок у тексті зустрічаються на сторінках 66, 68, 78, 88, 91, 98, 99, 104, 107, 138 дисертації та 5, 8, 12, 13, 16 автореферату. Впродовж усього тексту РТЮ помилково розташована у списку класичних нерцепторних протеїнофосфатаз (стор. 85, 87, 161, 166). У розділі 1 виникає питання щодо остаточної класифікації протеїнофосфатаз, а також її суттєвих відмінностей у рослин. У розділі 4 варто було б обґрунтувати, чому

контрольна група обмежена лише трьома протеїнофосфатазами рослин PP1, PP2A і PP4. На рис. 4.5-4.7 відсутні пояснення, які саме селективні інгібітори утворюють комплекс. У розділі 5 можна було б навести дані щодо токсичності представлених природних сполук. У цьому ж розділі можна було б подати структурні формули 5 відібраних речовин і посплатися на їх відомі властивості.

Однак, ці зауваження не є суттєвими. Вони не мають загального характеру і жодною мірою не впливають на високу позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Загалом, дисертаційна робота Самофалової Д.О. була виконана на сучасному науковому та методичному рівні і ґрунтується на значному матеріалі оригінальних досліджень. Отримані дані розширюють уявлення стосовно протеїнофосфатаз рослинного походження та їх потенційних інгібіторів. В роботі було вперше реконструйовано повні фосфатоми рослин і проаналізовано еволюційну дивергенцію фосфатомів вищих рослин і людини, а також визначено групу рослинних гомологів тваринних протеїнофосфатаз, що належить до суперродин серин/треонін-, тирозин- та аспартат-специфічних протеїнофосфатаз. Відібрано групу рослинних протеїнофосфатаз, пов'язаних з регуляцією структури та функцій мікротрубочок. Встановлено структурні особливості взаємодії деяких інгібіторів з протеїнофосфатазами рослин.

Представлена дисертаційна робота є цілеспрямованим фундаментальним дослідженням і має завершений характер. Дисертація вміщує значний за обсягом і значимий за змістом науковий матеріал. Основні результати дисертації опубліковано в 7 статтях у фахових виданнях (3 з них входять до наукометричної бази даних Scopus) і 15 тезах у збірниках закордонних і вітчизняних з'їздів та конференцій. Наукові публікації повністю відображають зміст представленої роботи. Головні положення дисертації і автореферату ідентичні. Висновки дисертаційної роботи виважені і узагальнюють досягнення роботи.

Підсумовуючи викладене вище, можна зробити висновок, що дисертація Самофалової Д.О. є завершеною працею, в якій отримано нові науково

обґрунтовані результати в області клітинної біології, що в сукупності вирішують конкретну наукову задачу, пов'язану з цитоскелетними протеїнофосфатазами та механізмами їх інгібування і є суттєвими для подальшого розвитку цього напрямку. Беручи до уваги актуальність обраної теми, достовірність, новизну і практичне значення отриманих результатів, а також обґрунтованість сформульованих наукових положень і висновків, вважаю, що дисертаційної робота «Реконструкція просторової структури протеїнофосфатаз, задіяних в регуляції цитоскелету у рослин, та структурно-біологічні механізми їх взаємодії зі специфічними інгібіторами» повністю відповідає вимогам пунктів 9, 10, 12 Кабінету міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., зі змінами № 656 від 19.08. 2015, № 1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016, а також відповідає вимогам Міністерства освіти і науки України до кандидатських дисертацій, а її автор - Дарія Олексіївна Самофалова заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 - цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Офіційний опонент -

чл.-кор. НАН України,

доктор хімічних наук, професор

директор Інституту біоорганічної

хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря

НАН України



А.І. Вовк