

ВІДГУК

офіційного рецензента на дисертаційну роботу

Булгакова Іллі Володимировича

**«Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків,
відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної
клітини», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за
спеціальністю 091 – Біологія**

Актуальність обраної теми. Дисертаційна робота Булгакова Іллі Володимировича присвячена дослідженню процесу ініціації та організації аутофагосом у рослин. Тема роботи є надзвичайно важливою, адже процес аутофагії є ключовим фундаментальним процесом, що підтримує клітинний гомеостаз, регулює розвиток і диференціацію клітин та бере участь в адаптації до стресу. Однак механізми участі рослинних білків в аутофагії залишаються менш вивченими, ніж у тварин і дріжджів, що обмежує розуміння їхньої ролі у стресостійкості, розвитку та відповіді на патогени. Використання сучасних біоінформатичних підходів дає змогу ефективно досліджувати ці процеси, скорочуючи час і витрати порівняно з експериментальними методами. Дослідження механізмів аутофагії у рослинах, особливо взаємодії фагосоми з цитоскелетом, та впливу посттрансляційних модифікацій білків, задіяних у процесах аутофагії, має як фундаментальне, так і прикладне значення, відкриваючи перспективи для створення нових стратегій, спрямованих на регуляцію аутофагії та підвищення стресостійкості у рослин.

Ступінь обґрунтованості та достовірності. Структура роботи відповідає поставленій меті та завданням, які вирішувалися шляхом застосування сучасних методологічних підходів *in silico*. Проведено значний обсяг експериментальної роботи з використанням сучасних методів біоінформатичного аналізу. Висновки та наукові положення логічно сформульовані на основі отриманих результатів і є достатньо обґрунтованими. Під час проведення дослідження автором ретельно

опрацьовано значний обсяг літератури, що забезпечило міцне теоретичне підґрунтя для інтерпретації отриманих результатів. Порівняння отриманих результатів з даними попередніх досліджень дозволило запропонувати науково обґрунтовані пояснення щодо клітинних механізмів залучення окремих білків до розвитку аутофагії у рослин.

Наукова новизна. Вперше здійснено комплексне дослідження усіх ATG-білків рослинного походження, залучених у формування першого та другого білкових комплексів, спрогнозовано можливі механізми взаємодії зазначених комплексів з білком ATG8 на етапах ініціації утворення аутофагосом. Вперше продемонстровано вплив ацетилювання на елементи цитоскелету — від мономерних до полімерних форм — та ідентифіковано ключові амінокислотні залишки на поверхні α -тубуліну, що піддаються ацетилюванню. Досліджено особливості взаємодії ключового білка ATG8 рослинного походження з мікротрубочками, що розширює уявлення про молекулярні механізми регуляції аутофагії.

Повнота викладу у фахових виданнях та апробація основних результатів. За результатами дисертаційного дослідження Булгакова Іллі Володимировича опубліковано 8 робіт, з яких 1 стаття у міжнародному фаховому журналі (належить до наукометричних баз Scopus/Web of Science, Q2), 3 статті у вітчизняних фахових виданнях, 2 статті, які додатково висвітлюють результати досліджень, а також двоє тез доповідей на українській та міжнародній наукових конференціях, що свідчить про апробацію дослідження у науковій спільноті.

Академічна доброчесність. Дисертаційне дослідження виконано з дотриманням принципів академічної доброчесності. Дисертаційна робота засвідчує наукову етику та відповідальність автора, що виражається у належному оформленні посилань на першоджерела.

Практичне значення. За результатами дослідження розроблено модель комплексу, що дозволяє досліджувати посттрансляційні модифікації

амінокислот тубулінів та їхню взаємодію з оточенням у складі мікротрубочок або з асоційованими MAP-білками. На основі отриманих даних щодо селективної взаємодії білків родини ATG8 із партнерами, а також оптимізованого протоколу підготовки білок–білкових комплексів, створено науково-методичну основу для цілеспрямованого пошуку інгібіторів взаємодії ATG8 з низкою білків–субстратів, зокрема селективного характеру. Це відкриває перспективи для розробки нових підходів до регуляції процесів аутофагії, що може бути використано у фундаментальних дослідженнях та у роботах біотехнологічного спрямування, наприклад, при створенні рослин з модифікаціями механізмів аутофагії.

Оцінка структури, змісту та форми дисертації. Дисертація побудована за традиційною схемою та охоплює анотацію, вступ, огляд літератури (розділи 1-3), методологію дослідження (розділ 4), результати дослідження (розділи 5-7), узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел та додаток.

Вступ до роботи містить необхідну інформацію про актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, мету, завдання та методи дослідження. У розділі висвітлено наукову новизну одержаних результатів та їхнє практичне значення, особистий внесок дисертанта та наведено дані про апробацію результатів дисертації.

Огляд літератури складається з трьох розділів, які присвячені аналізу літературних джерел. Проаналізовані існуючі дані щодо фізіологічної ролі, механізмів, етапів та типів аутофагії. Особливу увагу приділено ролі цитоскелету у розвитку аутофагії. Представлений аналіз наукової періодики доводить актуальність обраної теми та дозволяє обґрунтувати поставлені у роботі завдання.

У розділі «Матеріали і методи дослідження» описані задіяні у роботі методи класичної та структурної біоінформатики.

Результати проведених досліджень представлено у трьох наступних розділах. Зокрема у Розділі 5 наведено детальний аналіз головного комплексу ATG1, порівняльну характеристику його компонентів на міжвидовому рівні.

Крім того, особлива увага приділена ATG8 та сформовано модель ATG3–ATG5–ATG7–ATG12–ATG16 із передбаченням сайтів зв'язування білків-партнерів. У Розділі 6 проаналізовано участь мікротрубочок у розвитку аутофагії. У Розділі 7 зосереджено увагу на ролі ATG8 та ефектах його модифікацій (зокрема ацетилювання, ліпидування) на взаємодію з тубуліном, аутофагічними рецепторами та адаптерними білками.

Автором здійснено узагальнення результатів дослідження та сформовано 11 висновків, які цілком логічно випливають з проведених досліджень.

Загальний обсяг дисертації становить 187 сторінок, робота містить 27 рисунків, 3 таблиці, один додаток та 351 джерело літератури. Загалом викладення матеріалу у дисертаційній роботі логічне та детальне, отримані результати дослідження є ґрунтовними та добре проілюстровані, розділи роботи логічно пов'язані один з одним, що забезпечує послідовність викладення матеріалу.

Дискусійні положення, зауваження та побажання щодо змісту та оформлення дисертації. Дисертація є ґрунтовною працею, яка поєднує загальний біоінформатичний аналіз та глибинне структурне молекулярне моделювання білкових комплексів. Зокрема дисертаційна робота базується на дослідженні ініціації процесу аутофагії у рослин *in silico* та демонструє оригінальність у моделюванні задіяних у цьому процесі рослинних білкових комплексів, для яких відсутні або обмежені експериментальні дані. Однак, в процесі рецензування дисертаційної роботи виникло декілька питань та побажань уточнюючого та дискусійного характеру, зокрема:

1. Результати симуляцій молекулярної динаміки показують, що ацетилювання K40 у α -тубуліні утворює більш стабільний комплекс з ATG8. Чи досліджували Ви подібний ефект для інших посттрансляційних модифікацій, таких як, наприклад, фосфорилювання?
2. Ви виявили потенційну роль адаптера FYWE (ортолога FYCO1 з клітин людини) в якості медіатора ATG8 та моторних білків. Чи плануєте

Ви подальше моделювання взаємодій з моторними білками, такими як кінезини?

3. Дисертація являє собою роботу *in silico*, але можливо Ви додатково можете порекомендувати конкретні експериментальні валідації для підтвердження запропонованих моделей?

4. Можливо у подальшій роботі доцільно було б спрямувати зусилля на практичне використання запропонованих моделей білкових комплексів як потенційної основи для розробки підходів, що сприятимуть підвищенню стійкості рослин, наприклад, шляхом пошуку регуляторних ділянок і потенційних мішеней для молекулярної селекції чи біотехнологічних втручань?

5. У дисертації трапляються невдалі вирази та складно сформульовані речення, які можна трактувати неоднозначно.

6. В дисертації запропоновані оптимізовані протоколи для докінгу та симуляцій молекулярної динаміки, які можна адаптувати і для інших біологічних систем, що робить проведене дослідження корисним для різних дослідницьких цілей. А чи підходять запропоновані моделі та протоколи, описані в роботі, для викладання в курсах біоінформатики чи молекулярної біології, наприклад, для розвитку навичок методів *in silico*?

Загальний висновок рецензента. Дисертаційна робота Булгакова Іллі Володимировича «Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків, відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної клітини» є самостійним завершеним дослідженням, що за актуальністю теми, особистим вкладом дисертанта, практичною значущістю результатів, обґрунтованістю висновків та високим науковим рівнем відповідає вимогам до наукової кваліфікації ступеня доктора філософії, що встановлені Постановою КМУ «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12.01.2022 р. № 44 із змінами, та наказу МОН України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження Вимог

до оформлення дисертації», а його автор, Булгаков Ілля Володимирович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент дисертації,

к.б.н, с.н.с. відділу популяційної генетики

Державної установи «Інститут харчової

біотехнології та геноміки НАН України»

Анастасія РАБОКОНЬ