

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертаційної роботи Булгакова Іллі Володимировича на тему «Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків, відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної клітини», яка представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 – Біологія

Публічна презентація наукових результатів дисертації Булгакова Іллі Володимировича на тему «Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків, відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної клітини» та її обговорення відбулися 20 червня 2025 р. на розширеному засіданні відділу геноміки та молекулярної біотехнології Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України». У результаті проведеної презентації та обговорення дисертації присутні на засіданні відділу дійшли таких висновків:

Науковий рівень дисертації відповідає діючим вимогам до атестації здобувачів ступеня доктора філософії, а саме вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою КМУ від 12.01.2022 р. № 44 із змінами, а саме:

щодо пунктів 6 і 7 – дисертація подана у вигляді спеціально підготовленого рукопису, написаного державною мовою, є кваліфікаційною науковою працею, виконаною особисто здобувачем. Дисертація відзначається єдністю змісту, має встановлену вимогами структуру: анотацію, вступ, сім розділів, узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел, додаток та містить нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачем досліджень для виконання завдання, яке має значення в галузі

біологія, а саме – визначення молекулярних та структурних передумов ініціації аутофагії рослин.

Дисертація виконана на актуальну тему. Аутофагія відіграє важливу роль у клітинному розвитку та диференціації, приймає участь у пригніченні росту пухлин і може бути пов'язана з подовженням тривалості життя. Аутофагія також відіграє різноманітні ролі у вродженому та адаптивному імунитеті, наприклад, у процесах стійкості до вторгнення патогенних мікроорганізмів. Дослідження процесу ініціації та організації аутофагосом є одним із ключових для розуміння механізмів існування клітин та цілих організмів. Незважаючи на це, ланки цього каскаду міжбілкових взаємодій досі недостатньо вивчені, особливо це стосується рослинних організмів. Процес ініціації та розвитку аутофагії при стресі є однією з актуальних проблем біології, оскільки в залежності від ступеня пошкодження клітин цей процес може сприяти або виживанню, або загибелі клітин. Тому моделювання ефекту ацетилювання за допомогою методів *in silico* для розуміння процесу структурних змін та подальшої взаємодії ключових елементів, що контактують із фагосомою, підкреслює актуальність дослідження.

Дисертаційна робота виконана у рамках бюджетної науково-дослідницької роботи «Біоінформатичні та молекулярно-клітинні дослідження структури та функцій цитоскелету рослин» (номер держреєстрації 0120U100937, 2020–2024 рр.), що підтверджує актуальність та цінність її напрацювання.

Результати дослідження дисертанта мають наукову новизну. У дисертаційній роботі вперше проведено комплексне дослідження сиквенсів та змодельовано тривимірні моделі рослинних гомологів білків першої та другої системи АТГ кон'югації. Спираючись на отримані дані, вперше були підготовлені моделі та побудовані комплекси, що певним чином доводить не тільки структурну, а й функціональну подібність цих елементів (АТГ білків) у рослин та тварин.

Проведено порівняльний аналіз ізотипів білка ATG8 *A. thaliana* та їх ортологів тваринного походження, визначено потенційні сайти їх ацетилювання та побудовано просторові моделі білку ATG8 *A. thaliana*. За результатами проведених симуляцій отримано структури, необхідні для молекулярного білок–білкового докінгу та подальшої інтерпретації взаємодії комплексу другої системи ATG кон'югації з молекулою білку ATG8.

Послідовно були побудовані просторові моделі білку ATG8 *A. thaliana* та здійснено їх кластеризацію за конформаційною мінливістю досліджуваних сайтів LDS. Уперше продемонстровано механізм спорідненості ATG8 *A. thaliana* з різними адапторними пептидами.

Вперше змодельовано і порівняно ліпідовані молекули білку ATG8 із *A. thaliana* та людини, що дозволило виявити два варіанти розташування ATG8 та характер взаємодії білка з мембраною, демонструючи відмінності у точках взаємодії з білком LC3 людини.

Вперше досліджено вплив ацетилювання ключових амінокислотних залишків α -тубуліну рослин, а, саме, залишків K40, K60, K112, K163, K326 і K394 на формування та стабільність мікротрубочок.

Результати дисертації мають практичну цінність. Одним із ключових результатів є розробка модельного комплексу для дослідження посттрансляційних модифікацій амінокислот тубулінів та їх взаємодії із оточенням в ансамблі мікротрубочки або MAP білками. Підготовлено робочий протокол для введення модифікацій та їх дослідження методами *in silico*.

Результати аналізу ізотипів рослинного α -тубуліну дають можливість досліджувати розподіл подібних ізотипів у різних організмів, сортів. Найбільш нестабільним із трьох досліджених є ізотип TBA1, який не містить залишків Lys ні в 40, ні в 60 положеннях. Отримані фундаментальні результати, підкріплені додатковим аналізом геномів організмів, дозволяють сформулювати основу для передбачення поведінки мікротрубочкового апарату на клітинному рівні.

Спираючись на отримані дані щодо селективної взаємодії ATG8 із партнерами та протоколу підготовки білок–білкових комплексів, закладено основу для пошуку інгібіторів, навіть селективного характеру, взаємодії із рядом білків–субстратів ATG8. Цих матеріалів достатньо для формування уявлення про характер зв'язування білка та субстрату і проведення первинного пошуку селективних інгібіторів пептидної природи або пептидоміметиків.

Оформлення дисертації відповідає діючим вимогам, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40. Робота викладена науковим стилем, її зміст представлено в логічній послідовності розв'язування завдань дослідження.

Структура й обсяг дисертації відповідають вимогам виконаної освітньо-наукової програми. Дисертація складається з анотації, вступу, семи розділів, узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатку. Дисертація містить 27 рисунків, 3 таблиці, список використаних джерел, який складається з 351 посилань. Загальний обсяг рукопису становить 187 сторінок.

Наукові результати дисертації опубліковані у повному обсязі, апробація результатів є достатньою, отже вимоги пунктів 8 і 9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою КМУ від 12.01.2022 р. № 44 із змінами виконані.

За матеріалами дисертації опубліковано 8 праць: одна стаття у міжнародному фаховому виданні (належить до наукометричних баз Scopus/Web of Science, Q2), 3 статті у вітчизняних фахових видань та двоє тез доповідей на українській та міжнародній наукових конференціях. Дві статті у міжнародних фахових виданнях (належить до наукометричних баз Scopus/Web of Science, Q1) додатково висвітлюють результати досліджень.

У наукових публікаціях здобувача повною мірою висвітлено сутність, зміст та наукову новизну результатів дисертаційного дослідження. Ключові

положення роботи були презентовані на вітчизняній та міжнародній науково-практичних конференціях і отримали схвальні оцінки наукового співтовариства. Апробація результатів дисертації є достатньою. Її рівень підтверджує наукову цінність, обґрунтованість та актуальність отриманих даних.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті:

1. **Булгаков ІВ**, Раєвський ОВ, Блюм ЯБ. Реконструкція моделі мультипротеїнового комплексу, критичного для ліпідизації білка ATG8 під час формування аутофагосоми у рослин. Допов Нац акад наук Укр. 2025;1:68–76. DOI: 10.15407/dopovidi2025.01.068. (*Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті*).

2. **Булгаков ІВ**, Раєвський ОВ. Реконструкція геометрії молекул ATG13 та ATG101 у процесі складання комплексу. Фактори експер евол орг. 2024;35:146–50. DOI: 10.7124/FEEO.v35.1676. (*Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, проведення молекулярно-біологічного аналізу, узагальнення та інтерпретація результатів, написання статті*).

3. **Булгаков ІВ**, Раєвський ОВ. Дослідження ATG білків, залучених до формування комплексу ATG1, його взаємодії з білком ATG8 в процесі дозрівання аутофагосом. Фактори експер евол орг. 2023;32:136–41. DOI: 10.7124/FEEO.v32.1550. (*Особистий внесок здобувача: опрацювання та узагальнення результатів, провадження експериментальних досліджень, написання статті*).

Статті у наукових виданнях, індексованих в базах даних Web of Science, Scopus, Google Scholar

4. Rayevsky A, **Bulgakov E**, Sharifi M, Samofalova D, Ozheredov D, Karpov P, Pantano S, Blume Ya. *In silico* induced effect of N-ε-lysine acetylation on microtubule stability and subsequent interaction of microtubule-associated proteins. Cell Biol Int. 2023;47(9):1547–57. DOI: 10.1002/cbin.12052 (*Особистий внесок здобувача: приймав участь у аналізі літературних джерел, у розробці схеми досліджень, постановці експериментів, написанні статті*) (Scopus/WoS, Q2)

Публікації, що додатково висвітлюють результати дослідження:

5. Rayevsky A, **Bulgakov E**, Blume R, Novozhylov D, Stykhylias M, Ozheredov S, et al. Lysine Acetylation of Plant α-Tubulins: Scaling Up the Local

Effect to Large System Transformations. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 2025 Jun 4. DOI: 10.1002/prot.26846 Epub ahead of print. (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних першоджерел, участь у розробці планів досліджень, постановка експериментів та написання статті) (Scopus/WoS, Q1)

6. **Bulgakov E**, Rayevsky A, Stykhylias M, Ozheredov S, Spivak S, Blume Ya. Structural flexibility and shape similarity contribute to exclusive functions of certain ATG8 isoforms in the autophagy process. 28 August 2024, PREPRINT (Version 1) available at Research Square DOI: 10.21203/rs.3.rs-4831294/v1 (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, участь у розробленні схеми досліджень, постановка експериментів, написання статті)

Тези:

1. Rayevsky A, **Bulgakov E**, Blume Ya. Structural preconditions for the ATG8 functioning and the effect of lipidation and acetylation on its regulatory mechanism. B: 7th Congress of the All-Ukrainian Public Organization «Ukrainian Society of Cell Biology» with international representation; 2024 Sept. 11–13; Lviv, Ukraine. 2024. P. 12.

2. **Булгаков ІВ**, Раєвський ОВ. Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків задля ідентифікації сайтів зв'язування ATG8. B: IV конференція молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія»; 2025 Трав 16–18; Київ, Україна. К.: 2024. с. 6.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково–практичних конференціях: IV–й Конференції молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія» (16–18 травня 2024 р. Київ, Україна), (VII) 7th Congress of the All-Ukrainian Public Organization «Ukrainian Society of Cell Biology» (11–13 вересня 2024 р., Львів, Україна).

Дисертаційна робот Булгакова Іллі Володимировича на тему «Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків, відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної клітини» **виконана з дотриманням принципів академічної доброчесності.** За результатами перевірки на текстові збіги (<https://my.plag.com.ua>), рівень подібності становить 12 %, що свідчить про оригінальність проведеного дослідження.

Усі результати, представлені до захисту, були отримані здобувачем самостійно та відображені в опублікованих наукових працях. У співавторських

публікаціях використано лише ті положення, ідеї та розрахунки, які є результатом її особистих досліджень. Особистий внесок здобувачки у колективні наукові роботи чітко визначений і зазначений у переліку опублікованих праць, що наведені вище.

Робота виконана з дотриманням біоетичних принципів (протокол № 6 засідання комісії з питань біоетики ДУ «ІХБГ НАН України» від 23 червня 2025 року).

Загальний висновок. Дисертація Булгакова І.В. є завершеним дослідженням, вирішує актуальне завдання – дослідження структурних елементів рослин, що беруть участь у початкових етапах процесу аутофагії. Робота розширює фундаментальні уявлення про молекулярні механізми, які детермінують розвиток цього процесу у рослин. Отримані результати мають наукову новизну та практичне значення для молекулярної та структурної біології. Проведені дослідження засвідчують, що здобувач є кваліфікованим та підготовленим науковим працівником, який володіє сучасною методологією наукового пошуку, має широкий науковий кругозір, уміє самостійно формулювати наукові завдання, ефективно вирішувати поставлені наукові проблеми та досягати поставленої мети дослідження. Він демонструє високий рівень готовності до проведення самостійної наукової діяльності в галузі біології та біотехнології.

Подана дисертаційна робота на тему «Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків, відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної клітини» Булгакова Іллі Володимировича відповідає спеціальності 091 – Біологія, вимогам до дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії, а саме вимогам пунктів 6, 7, 8 і 9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової вченої рада закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою КМУ від 12.01.2022 р.

№ 44 із змінами, та може бути представлена до публічного захисту у разовій спеціалізованій вченій раді.

Рішенням розширеного засідання відділу клітинної біології та біотехнології (протокол № 10 від 20.06. 2025 р.) УХВАЛИЛИ:

Затвердити Висновок про наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів дисертації Булгакова Іллі Володимировича на тему «Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків, відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної клітини», яка представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 – Біологія.

Рекомендувати дисертацію Булгакова Іллі Володимировича на тему «Біоінформатичний аналіз і моделювання комплексу білків, відповідальних за асоціацію фагосоми з мікротрубочками рослинної клітини» до публічного захисту у разовій спеціалізованій вченій раді в галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності – 091 Біологія після її утворення рішенням вченої ради ДУ «ІХБГ НАН України» та введення в дію відповідного наказу.

Головуюча на засіданні,
заст. завідувача відділом геноміки
та молекулярної біотехнології
ДУ «ІХБГ НАН України», к.б.н.



Світлана СПІВАК

27.06.2025 р.



Підпис	<i>Співак С.</i>
	(ПІБ)
Засвідчую	<i>Дзю</i>
Зав. ВК	<i>Грнкова Р.П.</i>
підпис	ПІБ