

РЕЦЕНЗІЯ
на дисертаційну роботу
Бджоли Анни Володимирівни
«КоАлювання кінази рибосомного білка S6 та його регуляторна роль»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
в галузі знань **09 - Біологія**
за спеціальністю **091 – Біологія**

Актуальність теми

Актуальність теми дослідження, представленого в дисертації Бджоли А.В., зумовлена важливістю розуміння механізмів регуляції кінази рибосомного білка S6, яка відіграє ключову роль у процесах клітинного росту, проліферації, метаболізму та диференціації. S6K1 є центральним елементом mTOR/Akt/S6K-залежного сигнального шляху, що відповідає за адаптацію клітини до умов навколишнього середовища та внутрішніх стресових факторів, таких як нестача поживних речовин, оксидативний стрес та метаболічні зміни. Дисфункція цього шляху може призводити до розвитку різних патологій, зокрема онкологічних, серцево-судинних та метаболічних захворювань. Через це S6K1 є перспективною мішенню для терапевтичних стратегій, спрямованих на регуляцію клітинного сигналіngu в умовах патологічних процесів.

У контексті посттрансляційних модифікацій S6K1, значна увага приділяється фосфорилуванню, як основному механізму активації цієї кінази. Проте останні дослідження свідчать, що окрім фосфорилування, існують і інші важливі механізми регуляції активності S6K1, серед яких можна виділити КоАлювання. Ця модифікація впливає на стабільність та функціональність білків, що є важливим у випадку S6K1. До того ж КоАлювання S6K1 в умовах оксидативного та метаболічного стресу може бути одним із механізмів захисту білка від надмірного окислення та деградації. Це може допомогти у розумінні того, яким чином клітини адаптуються до стресових умов, зокрема за умов підвищення рівня активних форм кисню. Дослідження КоАлювання S6K1 може допомогти у розкритті ролі критичних цистеїнових залишків в регуляції активності цього білку. Зокрема, КоАлювання залишку Cys217 S6K1 впливає на активність кінази, інгібуючи її функціонування за рахунок конкуренції між молекулами КоА та АТФ за активний центр ензиму. Цей механізм є новим і важливим з точки зору розробки підходів до терапії захворювань, пов'язаних із порушенням активності S6K1, таких як рак і метаболічні патології. Також, дослідження механізмів

зв'язування КоА з S6K1 та впливу КоАлювання на активність кінази має велике значення для розуміння регуляції білкових комплексів загалом.

Таким чином, дисертаційна робота, присвячена вивченню КоАлювання кінази рибосомного білка S6, є актуальною не лише з точки зору фундаментальної біології, але й відкриває перспективи для прикладних досліджень у галузі медицини. З огляду на значущість p70S6K1 в різних захворюваннях, результати цього дослідження можуть мати важливі наслідки для розробки нових методів діагностики та терапії, що базуються на регуляції активності цієї кінази через КоАлювання.

Зв'язок дисертації з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в рамках основного науково-дослідного плану відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Дослідження проведено в межах бюджетних проєктів: «Особливості структурно-функціональної організації mTOR/S6K-залежного сигнального каскаду в нормальних та злоякісних клітинах: множинність сплайсових ізоформ mTOR та S6K кіназ» (2015-2020, 0110U000692) та «Особливості функціональної активності ізоформ кінази рибосомного білка S6 (S6K1) та молекулярних механізмів її регуляції в нормі та патології» (2021-2025, 0121U109973).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.

Матеріали дисертації структуровані відповідно до поставлених цілей та завдань дослідження, які були чітко сформульовані. Авторка здійснила детальний огляд літератури за темою, що дозволило визначити наукову новизну отриманих результатів. Використання зазначених методів сприяло розв'язанню ключових проблем, на яких базувалося дослідження. Висновки роботи чітко відображають її основний зміст і добре узгоджуються з отриманими результатами. Наукові положення та висновки ретельно обґрунтовані та відповідають проведеним дослідженням.

На підставі аналізу звіту щодо подібності, отриманого після перевірки дисертаційної роботи на наявність текстових збігів, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Бджоли Анни Володимирівни є результатом її самостійних досліджень. У роботі відсутні елементи фальсифікації, компіляції, фабрикації, плагіату чи неправомірних запозичень. Ідеї, результати та тексти інших авторів коректно цитовані з відповідними посиланнями на джерела.

Наукова новизна отриманих результатів.

Наукова новизна отриманих результатів дослідження полягає у виявленні та детальному вивченні нового типу посттрансляційної модифікації кінази рибосомного

білка S6 (S6K1) — КоАлювання, та його регуляторної ролі в умовах оксидативного та метаболічного стресу. Вперше ідентифіковано цистеїн 217 як ключовий сайт КоАлювання S6K1, що розташований у критичній для функціонування кінази активаційній петлі. Також показано, що КоАлювання цього цистеїну виконує протекторну роль, захищаючи білок від надмірного окислення в умовах підвищеного рівня активних форм кисню, а також має інгібуючий вплив на його кіназну активність. Важливою новацією є також демонстрація взаємозв'язку між наявністю консервативного цистеїну в позиції 231 та рівнем КоАлювання S6K1, що вказує на можливість утворення внутрішньомолекулярних дисульфідних зв'язків і подальшої регуляції доступності Cys217 для молекули КоА. Застосування методів молекулярного докінгу та молекулярної динаміки дозволило вперше описати механізм інгібуючого впливу КоАлювання на активність S6K1, що включає конкуренцію між КоА та АТФ за зв'язування з активним центром кінази, зокрема через стабілізацію АДФ-фрагменту КоА всередині АТФ-зв'язуючої кишені.

Крім того, вперше було отримано моноклональні антитіла проти Коензиму А, які продемонстрували високу специфічність до КоАльованих білків. Такі антитіла можуть бути використані як новий інструмент для детекції таких модифікацій різними імунологічними методами. Ці антитіла відкривають нові перспективи для дослідження КоАлювання в широкому спектрі біологічних процесів та клітинних моделей. Новим є також створення і вивчення рекомбінантної форми конститутивно активної p70S6K1 (His-actS6K1), що дозволило експериментально підтвердити дозо- та часозалежний характер процесу КоАлювання та його вплив на функціональну активність кінази. Отримані результати відкривають нові напрями для подальших досліджень регуляторної ролі КоАлювання інших білків та його значення у різних патофізіологічних станах.

Теоретичне та практичне значення результатів дисертації.

Результати дисертаційної роботи Бджоли А.В. мають значне теоретичне та практичне значення у вивченні регуляції кінази рибосомного білка S6 (p70S6K1) через новий тип посттрансляційної модифікації — КоАлювання. Це дослідження відкриває нові горизонти в розумінні механізмів, які контролюють функціональну активність p70S6K1 у контексті клітинного метаболізму, проліферації та відповідей на стрес.

Теоретичне значення. Дослідження внесло значний вклад у знання про роль КоАлювання як регуляторної модифікації. Встановлено, що ця модифікація впливає

на активність та стабільність p70S6K1, що пропонує новий механізм регуляції активності цієї кінази. Результати роботи показують, що КоАлювання захищає p70S6K1 від окислювального стресу, що відкриває нові можливості для розуміння її функцій у патофізіологічних процесах. Оскільки p70S6K1 є ключовим компонентом сигнального шляху mTOR/Akt1, дослідження впливу КоАлювання на цю кіназу може стати основою для подальших досліджень у сфері біології ракових пухлин та метаболічних захворювань, пов'язаних з дисфункцією цього шляху.

Практичне значення. Визначення ролі КоАлювання у регуляції p70S6K1 відкриває шляхи для моніторингу активності цієї кінази у хворобах, зокрема у ракових процесах, із використанням нових біомаркерів. Результати роботи можуть слугувати основою для створення нових терапевтичних засобів, спрямованих на корекцію патологій, пов'язаних з надмірною активністю p70S6K1. Це особливо актуально для розробки стратегій лікування раку, де регуляція p70S6K1 є важливою для контролю клітинного росту та розвитку пухлин. Виготовлені моноклональні антитіла до Коензиму А можуть бути використані в різних імунологічних методах для детекції КоАлювання в різних білках, що може стати у нагоді при вивченні механізмів регуляції функцій білків в клітині.

Повнота викладу основних наукових результатів у опублікованих наукових працях.

Результати дисертаційного дослідження широко висвітлені в публікаціях та тезах доповідей. Загалом було опубліковано 7 наукових праць, серед яких 3 статті в наукових фахових виданнях, що входять до бази даних WoS та Scopus, одна з яких належить до 1-го квартилю. Крім того, опубліковано 4 тези усних доповідей у збірниках матеріалів конференцій.

Відповідність теми дисертації профілю спеціальності

Дисертація Бджоли А.В. повністю відповідає стандарту спеціальності 091 «Біологія», галузі знань 09 «Біологія».

Мова та стиль викладення результатів.

Дисертаційна робота Бджоли А.В. написана українською мовою, має чітку та логічно структуровану побудову, викладена грамотною науковою мовою і легко сприймається. Робота добре ілюстрована числовими та графічними матеріалами, містить 25 рисунків та 3 таблиці. Загальний обсяг складає 156 сторінок, з яких основна частина охоплює 110 сторінок. Дисертація є завершеним науковим дослідженням, виконаним у класичному стилі, та складається з таких розділів: вступ,

огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати з їх обговоренням та висновки.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

1. Не зовсім зрозуміло, яким чином виявлення того факту, що ступінь КоАлювання кінази є дозо і часо-залежним, підтверджує дані літератури про те, що процес КоАлювання є найбільш ефективним в гепатоцитах і кардіоміоцитах, які містять найвищий рівень КоА, як вказує авторка (стор.4). На мою думку, може йтися хіба що про якусь кореляцію.

2. Логічно передбачити, що протекторна роль КоАлювання може полягати у збереженні активності ферментів. Але ж в даному випадку активність ферменту після КоАлювання суттєво знижується. Який сенс у інгібуванні активності кінази S6K1 під час стресів?

3. Є деякі невдалі вирази, наприклад глицеральдегідфосфатдегідрогеназа, яка названа авторкою сигнальним білком (стор.47), є, головним чином, все ж таки ферментом гліколітичного циклу. Невдалими із літературної точки зору є вислови «за теоретичною гіпотезою» (стор.94) чи «у клітинах кардіоміоцитів і гепатоцитів» (стор.4).

4. Побажання на майбутнє. Бажано дослідити, яким саме чином відбувається видалення КоА з кінази p70S6K1 в клітинах людини. Також бажано прояснити, чи піддаються КоАлюванню інші залишки цистеїну p70S6K1?

Усі ці зауваження і запитання є непринциповими і ніяким чином не впливають на високу оцінку дисертаційної роботи.

Висновок

Дисертаційна робота здобувачки ступеня доктора філософії Бджоли Анни Володимирівни на тему «КоАлювання кінази рибосомного білка S6 та його регуляторна роль» виконана на високому науковому рівні, дотримуючись принципів академічної доброчесності. Це завершене наукове дослідження, результати якого, як теоретичні, так і практичні, мають вагоме значення для розвитку галузі знань 09 – Біологія. Дисертація повністю відповідає вимогам чинного законодавства України щодо наукової новизни, актуальності та практичної цінності, викладеним у п.6–9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про

присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44.

Враховуючи результати роботи, Бджола Анна Володимирівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Рецензент:

доктор біологічних наук,
професор,
завідувач відділу структурної
і функціональної протеоміки
Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України



Борис Негруцький