

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**

Дисертаційна робота А.В. Бджоли присвячена актуальній науковій проблемі – дослідженню нового типу посттрансляційної модифікації кінази рибосомного білка S6 (S6K1), а саме КоАлюванню, та його впливу на функціональну активність цього важливого білка. S6K1 є одним із ключових компонентів PI3K/Akt/mTOR-залежного сигнального шляху, що регулює клітинний ріст, метаболізм, проліферацію і диференціацію, порушення в якому асоціюються з розвитком онкологічних і метаболічних захворювань, тому вивчення нових механізмів регуляції цієї кінази є важливим як з фундаментальної точки зору, так і для можливого застосування в розробці терапевтичних підходів. Зокрема, дослідження КоАлювання, як нового типу модифікації протеїнів, відкриває нові горизонти в регуляції активності ензимів за умов оксидативного стресу. Ці відкриття мають потенційне значення для розробки інноваційних терапевтичних стратегій у боротьбі з раком, діабетом і нейродегенеративними розладами, які пов'язані з порушенням функцій p70S6K1.

Дисертаційне дослідження Анни Бджоли ґрунтується на аналізі великого обсягу власних експериментальних даних, отриманих з використанням сучасних і класичних методів молекулярної і клітинної біології, які були коректно опрацьовані авторкою. Поставлені завдання відповідають меті роботи, а сформульовані висновки є логічними та обґрунтованими, охоплюючи ключові положення і результати, представлені в експериментальних розділах. Отримані дані оброблено статистично, їхня достовірність не викликає сумнівів.

В роботі дисертантки вперше досліджено посттрансляційну модифікацію кінази рибосомного білка S6 (p70S6K1) шляхом КоАлювання та визначено її регуляторну роль. Встановлено, що єдиним сайтом КоАлювання у p70S6K1 є Cys217, який розташований в активаційній петлі кіназного домену, в відносній близькості до сайту фосфорилювання кінази Thr229, що має ключове значення для регуляції активності ферменту. Встановлено, що КоАлювання Cys217 має негативний вплив на активність кінази та інгібує її активність на 40% в умовах *in vitro*. Доведено, що КоАлювання p70S6K1 посилюється під дією оксидативного стресу, що вказує на протекторну функцію цього процесу в умовах підвищення рівня активних форм кисню у середовищі. Визначено регуляторну роль деяких інших залишків Cys на коалювання.

Результати цього дослідження відкривають нові перспективи для вивчення КоАлювання як механізму регуляції активності кіназ і можуть сприяти розробці нових терапевтичних стратегій для лікування захворювань,

пов'язаних з надмірною активністю p70S6K1, зокрема онкологічних та метаболічних патологій.

Теоретичне значення результатів дисертації полягає у розширенні наукових знань про новий тип посттрансляційної модифікації кінрази рибосомного білка S6 (S6K1) — КоАлювання. Встановлено, що ця модифікація відбувається за умов оксидативного та метаболічного стресу, зокрема при впливі активних форм кисню, і виконує протекторну функцію, захищаючи S6K1 від надмірного окислення. Ідентифікація КоАлювання за сайтом Cys217 відкриває нові можливості в розумінні механізмів контролю активності p70S6K1 та її реакції на стресові чинники, що є важливим для розуміння клітинного сигналіngu та патофізіологічних процесів.

Важливе практичне значення результатів дисертаційної роботи полягає у створенні нових інструментів для дослідження посттрансляційних модифікацій, зокрема специфічних моноклональних антитіл до КоАльованих білків, що можуть бути використані в низці імунологічних методів, таких як вестерн-блот, імуноферментний аналіз, імунофлуоресценція та рідинна хроматографія/мас-спектрометрія. Виявлені механізми КоАлювання та їхній вплив на активність кінрази можуть бути використані для розробки нових терапевтичних стратегій, спрямованих на інгібування надмірної активності S6K1, що є важливим для лікування онкологічних та метаболічних захворювань.

Результати дисертаційного дослідження широко представлені у публікаціях та тезах доповідей, загалом опубліковано 7 наукових праць, у тому числі 3 статті у наукових фахових виданнях, з яких всі входять до WoS та Scopus (з них 1 стаття відноситься до I квартилю); та 4 тез усних доповідей в збірниках матеріалів конференцій.

Дисертація Бджоли А.В. повністю відповідає стандарту спеціальності 091 «Біологія», галузі знань 09 «Біологія». Її наукові положення, висновки та рекомендації, наведені в дисертації, є повністю обґрунтованими. Вони спираються на самостійно зібраний та ретельно оброблений матеріал, отриманий із застосуванням сучасних дослідницьких методів. Висновки, зроблені на основі аналізу зібраних даних, добре аргументовані та охоплюють усі основні аспекти, розглянуті в роботі.

Дисертація А. В. Бджоли справляє загальне позитивне враження, написана чітко, лаконічно, грамотно. Авторкою опрацьовано значний масив літературних даних, які слугували підґрунтям як для постановки мети і завдань роботи, так і для обговорення власних даних. Це визначило повну відповідність представленої до захисту дисертації існуючим у світовій науці поглядам і положенням. Дисертантка дотримується абсолютної логіки при викладенні матеріалу і його узагальненні. Тому суттєвих зауважень до роботи немає. Втім є деякі запитання, що мають переважно дискусійний характер.

1. Чи є відомості про існування певної консенсусної послідовності в амінокислотному оточенні Cys 217 залишків, яка впізнається КоА-лігазами чи іншими протеїнами та КоАлюється?

2. Для підтвердження гіпотези про негативний вплив утворення дисульфідного зв'язку між Cys 217 та Cys 231 на рівень КоАлювання кінрази

варто було б проаналізувати ефективність КоАлювання подвійних мутантів Cys217Ala-Cys231Ala. Крім того, цікаво як це впливає на активність самої кінази.

3. Чи існують експериментальні дані про утворення внутрішньомолекулярного дисульфідного зв'язку між Cys 217 та Cys 231 у S6K1 і про його вплив на активність кінази?

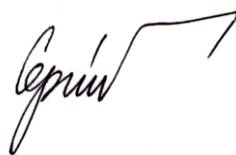
4. За умови гострого оксидативного стресу індукованого арсенітом гранулоподібні структури, що візуалізуються анти-S6K1 антитілами в цитоплазмі дисертант пов'язує з утворенням стресових гранул (рис. 3.8). То чи можна зробити висновок, що за таких умов стресу S6K1 може бути переважно локалізована в стресових гранулах, де крім всього вона і КоАльована?

5. На рис.3.7 за умови метаболічного стресу спостерігається візуалізація анти-КоА антитілами дуже схожих, як і в разі індукованого арсенітом оксидативного стресу, гранулоподібних структур при цьому явної колокалізації з ними S6K1 не спостерігається. Варто було б більш детально обговорити це спостереження і чи не можуть ці структури також відповідати стресовим гранулам замість, або разом з мітохондріями? На мій погляд з'ясування цього питання було б дуже важливим для загального розуміння функціональної активності S6K1 в клітині та механізмах її регуляції.

Отже дисертація Бджоли Анни Володимирівни «КоАлювання кінази рибосомного білка S6 та його регуляторна роль» оформлена згідно вимог за наказом МОН України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації». Дисертаційна робота Бджоли А.В., подана на здобуття ступеня доктора філософії, за своїми актуальністю, науковим рівнем, теоретичною практичною цінністю, використанням сучасних методів досліджень, оформленням, змістом та об'ємом опублікованих результатів повністю відповідає 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 Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року. а її автор, Бджола Анна Володимирівна, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент:

кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник,
в.о. завідувача
відділу функціональної геноміки
Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України



Сергій Кропивко