

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Новосильної Олександри Валеріївни** «СТРУКТУРНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВІДМІННОСТІ ІЗОФОРМИ А1 ТА ПРОТООНКОГЕННОЇ ІЗОФОРМИ А2 ФАКТОРА ЕЛОНГАЦІЇ ТРАНСЛЯЦІЇ eEF1A», представленої в спеціалізовану вчену раду Д 26.237.01 Інституту молекулярної біології і генетики НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

**Актуальність вибраної теми дисертації.** В організмі ссавців згідно останніх досліджень аналітичної та кількісної протеоміки існує достатня кількість протеїнів у вигляді кількох ізоформ, які кодуються різними генами або є сплайсованими варіантами продуктів одного й того ж гену, а їхні функції можуть бути однаковими чи діаметрально протилежними. Фактор елонгації трансляції ссавців eEF1A, завдяки здатності одночасно взаємодіяти із аміноацил-тРНК і А сайтом 80S рибосоми, забезпечує ГТФ-залежну елонгацію поліпептидних ланцюгів на рибосомі. У вищих хребетних він представлений ізоформами eEF1A1 і eEF1A2, які є трансляційно активними. Останній присутній у серцевому і скелетних м'язах та в нейрональній тканині, а eEF1A1 – у решті тканин. eEF1A може брати участь у сперматогенезі, клітинному циклі, шаперон-опосередкованій аутофагії, апоптозі, ліпотоксичній клітинній смерті, протеолізі та модуляції цитоскелету. Відомо, що eEF1A2 є протоонкогеном із антиапоптотичними властивостями, а eEF1A1 - про-апоптотичним протеїном. Вияснення базових принципів структурної організації ізоформ та їх загальних функціональних відмінностей є актуальним, оскільки на даний час відсутні такі дані.

**Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.** Дисертація відповідає основному плану фундаментальних досліджень, які проводяться в лабораторії біосинтезу білка відділу механізмів трансляції генетичної інформації Інституту молекулярної біології та генетики

НАН України за бюджетними темами: «Особливості функціонування та множинність форм фактора елонгації трансляції 1 вищих еукаріотів» (2.2.4.9, №0105U005340 2006 – 2010 рр.), «Дослідження трансляційних нанокомплексів та їх компонентів» (2.2.4.9; №0110U000693 2010 – 2015 рр), «Дослідження факторів елонгації трансляції ссавців у біосинтезі білка та інших клітинних процесах» (2.2.4.9, №0115U003744 2016-2020 рр).

**Мета і задачі дослідження.** Основною метою роботи було виявити структурні та функціональні відмінності ізоформ eEF1A1 і eEF1A2, остання з яких є протоонкогенною. Для досягнення мети були визначені такі основні завдання, як: розкрити структурні відмінності даних ізоформ за допомогою біоінформатичних та фізико-хімічних методів і визначити особливості їх взаємодії з протеїнами (кальмодуліном, актином і Sgt1).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Автором вперше було виявлено, що ізоформи eEF1A1 і eEF1A2 відрізняються за просторовою організацією, за гідрофобністю та здатністю до формування димерів, а також неоднаково взаємодіють із F-актином, формуючи актинові пучки різної форми (це може мати значення для ролі eEF1A2 за раку). Поряд з цим вперше встановлено, що прото-онкогенна ізоформа eEF1A2, на відміну від eEF1A1, не здатна взаємодіяти із сигнальним білком кальмодуліном (щодо цього висунута оригінальна гіпотеза, яка пояснює необхідність тканинспецифічної експресії ізоформи eEF1A2), а також із мультифункціональним білком Sgt1 і показане можливе значення взаємодії Sgt1 з eEF1A1 для системи ‘non-host’ антивірусного захисту.

**Із практичної сторони** отримані експериментальні результати роботи розширюють сучасні уявлення про можливість істотних структурних і функціональних відмінностей дуже подібних за амінокислотною послідовністю ізоформ протеїнів.

**Стосовно структури та обсягу дисертації** слід відзначити, що вона складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів

досліджень, результатів дослідження, аналізу та узагальнення результатів, висновків і списку використаної літератури (174 джерел), а її основний зміст викладено на 127 сторінках машинописного тексту, містить 2 таблиці, 46 рисунків.

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.** За результатами дисертації опубліковано 10 статей у фахових наукових журналах та тези 13 доповідей на наукових конференціях.

Автореферат достатньо відображає найбільш важливі положення дисертації і відповідає її змісту, а зроблені висновки сповна віддзеркалюють досягнення дисертанта.

Поряд з наведеною позитивною оцінкою дисертаційної роботи слід виділити такі основні дискусійні **питання, побажання та зауваження:**

1. На мою думку, як в авторефераті, так і в дисертаційній роботі слід конкретніше і чіткіше представити **«Практичне значення одержаних результатів»**, а саме чому: «Одержання конкретної інформації стосовно нездатності або зміненої здатності прото-онкогенної ізоформи eEF1A2 до взаємодії із певними білками поліпшують (?) розуміння її онкогенної ролі у певних видах(?) раку (? молочної залози, легень) людини», враховуючи ваше твердження в літературному огляді (с.22), що «Природа онкогенної дії eEF1A2 достеменно не виявлена...»?
2. Оскільки тема дисертаційної роботи «Структурні та функціональні відмінності ізоформи A1 та протоонкогенної ізоформи A2 фактора елонгації трансляції eEF1A.», то бажано представити узагальнену схему або таблицю (де відображено структурні та функціональні відмінності вище вказаних ізоформ).

3. На мою думку, у дисертаційній роботі і/або презентації самого матеріалу слід надати схему експериментальних досліджень для чіткішого сприйняття всього об'єму робіт.
4. Що автор мав на увазі в реченні на с.18-19 дисертаційної роботи: «Про важливість наявності eEF1A2 в таких тканинах свідчить таке генетичне порушення як wasted мутація мишей»?
5. У літературному огляді дисертаційної роботи бажано вказувати у підписах до рисунків (1.1. – 1.4.) цитування джерел інформації, оскільки це не результати власних досліджень дисертанта.
6. Чому саме для отримання eEF1A1 з печінки кроля була вибрана схема його виділення з постмітохондріального супернатанту за використання гель-фільтрації на сефакрилі S-400 та трьох видів хроматографій на: ДЕАЕ-целюлозі (DE-52), SP-сефарозі та гідроксиапатиті?
7. У дисертаційній роботі, на мою думку, слід приділити більше уваги формулюванню фраз, особливо перекладу термінів з англійської мови, наприклад, замість «у канцері» (С.9), можливо краще вжити «за онкологічного захворювання», «scaffold білки» (С.14) – «риштувальні білки», «в скляних чарунках» (С.41) – «в скляних лунках» і т.д., а також в тексті зустрічаються граматичні помилки, наприклад, «аніліном» (С. 13), «метаболіз\_» (С. 23), «термостатуємий шейкер» (С. 28), «1-анілин-8-нафталлинсульфонат» (С. 59) і т.д.
8. На мою думку, варто звернути увагу на системну помилку дисертанта в оформленні списку літератури: в повному поданні імен авторів публікацій, а не прізвища та ініціалів, наприклад, («54. ... **Jennifer** Doig, **Lowri** A Griffiths, **David** Peberdy, et al...»; «57. ... **Tetiana** V Trosiuk, **Vyacheslav** F Shalak, **Roman** H Szczepanowski, et al. ...»; «67. ... Pius **Joseph**, **Christina** M O'Kernick»; «100.... **Marcin** Nowotny, **Magdalena** Spiechowicz, **Beata** Jastrzebska, et al. ...» і т.д.

Вищенаведені та інші недоліки, побажання й зауваження, які обговорювалися із автором та науковим керівником, не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, адже вони стосуються переважно її оформлення та інтерпретації результатів.

#### **Загальний висновок.**

Дисертаційна робота **Новосильної Олександри Валеріївни**, присвячена дослідженню структурних та функціональних відмінностей ізоформи A1 та протоонкогенної ізоформи A2 фактора елонгації трансляції eEF1A, є цілісною, закінченою науковою працею. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів, глибиною розкриття поставлених проблем, логічністю і обґрунтованістю висновків дисертація повністю відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. №567, які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Доктор біологічних наук,  
професор кафедри біохімії  
Національного університету біоресурсів  
і природокористування України



Л. Г. Калачнюк



ПІДСВИДЧУЮ  
Заступник відділу кадрів  
М.В. Михайліченко  
*МВ* 2017р.