ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертаційну роботу ШАЛАКА В'ячеслава Федоровича "Структурно-функціональна організація макромолекулярних комплексів і їх компонентів апарату елонгації трансляції у ссавців", представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія

Актуальність теми дисертації. Молекулярні механізми трансляції – найбільш консервативного процесу для всіх живих організмів – достатньо непогано вивчені для бактерій. Разом з тим, незважаючи на високу консервативність, молекулярний апарат трансляції в еукаріотів має свої особливості, які залишаються не повністю з'ясованими. Дисертаційна робота В'ячеслава Шалака, присвячена дослідженню структурних і функціональних особливостей макромолекулярних комплексів, що працюють на дорибосомному етапі білкового синтезу, заповнює суттєву частину цієї прогалини. Відповідно, актуальність роботи не викликає сумніву. Слід сказати також, що, оскільки деякі з досліджених у роботі компонентів апарату трансляції залучені до розвитку низки патологічних станів, дисертація є актуальною і в практичному аспекті.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках наукової тематики відділу структурної та функціональної протеоміки (раніше лабораторія білкового синтезу) Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Загальні відомості про роботу. Дисертація містить 169 сторінок і складається з анотації, вступу, трьох розділів, що містять 12 підрозділів, де викладаються та обговорюються отримані результати, висновків і одного додатку з переліком опублікованих праць здобувача. Кожен підрозділ основної частини роботи містить репринт оригінальної статті автора англійською мовою.

Дисертація є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить ознак фальсифікації, компіляції чи запозичень, усі використані матеріали інших авторів мають належні посилання на відповідні джерела, що дозволяє констатувати відсутність порушень принципів академічної доброчесності.

Отримані автором результати, викладені у трьох основних розділах, стосуються досліджень структурної організації двох паралогів фактору елонгації трансляції eEF1A – eEF1A1 і eEF1A2 – та їхніх функціональних особливостей, структурної організації ще одного фактору елонгації

трансляції – макромолекулярного комплексу eEF1B, а також мультифункціональної ролі білка p43, що входить до складу комплексу аміноацил-тРНК-синтетаз.

Наукова новизна, достовірність отриманих результатів і обґрунтованість висновків. Використання широкого набору сучасних експериментальних методів і методів молекулярного моделювання дозволило автору отримати принципово нові результати, що поглиблюють розуміння молекулярних механізмів трансляції в еукаріотів. Автор сам визначає в анотації свої дослідження як "широкомасштабні" – і з такою оцінкою неможливо не погодитись.

У роботі вперше встановлено кристалічну структуру однієї з двох ізоформ еукаріотичного фактору елонгації трансляції eEF1A2 у комплексі з GDP і з'ясовано особливості механізму обміну GDP/GTP, що відрізняють еукаріотичний фактор від його бактеріального аналогу. Вперше показано, що, на відміну від компактної структури eEF1A2, інша ізоформа – eEF1A1 – реалізує у комплексі з GDP менш компактну структуру. При цьому ця ізоформа характеризується спорідненістю до низки неканонічних партнерів, взаємодії з якими впливають на реакцію обміну GDP/GTP. Крім того, продемонстровано взаємодію eEF1A1 з деаміноацильованою тРНК та деякими аміноацил-тРНК-синтетазами, що впливає на ензиматичну активність цих ферментів.

Вперше встановлено структурну організацію кофактору eEF1A – комплексу eEF1B, який складається з трьох субодиниць α, β і γ, і показано його тригетеротримерну організацію – $(\alpha\beta\gamma)_3$. З'ясовано молекулярний механізм такої тримеризації гетеротримерів, показано, що комплекс $(\alpha\beta\gamma)_3$ може зв'язувати до шести молекул eEF1A, а також визначено механізм оптимізації обміну GDP/GTP на eEF1A при його зв'язуванні з eEF1B$(\alpha\beta\gamma)_3$.

У роботі вперше детально досліджено мультифункціональну роль білка p43, що є компонентом комплексу певного набору еукаріотичних аміноацил-тРНК-синтетаз. Показано, що p43, взаємодіючи з аргініл-тРНК-синтетазою, не впливає на її ензиматичні активності і є водночас тРНК-зв'язувальним білком. Продемонстровано, що протеолітична деградація p43 при апоптозі призводить до вивільнення двох фрагментів, що мають цитокін-подібні активності, – відомого раніше EMAPII та вперше встановленого p43(ARF). Крім того, вперше показано, що мРНК p43 продукує шляхом альтернативної ініціації трансляції особливу ізоформу цього білка, яка локалізується у мітохондріях.

Використання сучасних експериментальних методів і методів молекулярного моделювання, ретельне виконання експериментів, застосування експериментальних технік, що доповнюють одна одну, узгодження отриманих результатів з існуючими експериментальними даними і висновками інших авторів, а також надійна попередня апробація отриманих результатів на сторінках високорейтингових наукових журналів, дозволяють констатувати достовірність експериментальних результатів та обґрунтованість наукових висновків, які повністю цим результатам відповідають.

Практичне значення дисертаційної роботи. Оскільки досліджені білки мають відношення до процесів канцерогенезу (eEF1A2 вважається прото-онкогенним білком, білки eEF1A1 і eEF1Bβ, як показано в роботі, взаємодіють з так званим трансляційно-контрольованим білком пухлин (TCTP)), розмноження РНК-вмісних вірусів (eEF1A1) та пригнічення запальних процесів (цитокін-подібні продукти деградації p43), отримані у дисертаційній роботі результати щодо структурно-функціональних властивостей цих білків можуть бути важливими для розробки нових терапевтичних стратегій, спрямованих на лікування відповідних патологічних станів.

Оприлюднення результатів дисертаційної роботи та повнота їх викладення в авторефераті. Автореферат адекватно і в повній мірі передає зміст дисертаційної роботи. Наукові положення і висновки дисертаційної роботи повністю викладено в опублікованих працях здобувача, що налічують 30 публікацій. Серед них 18 тез доповідей на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях та 12 статей у фахових наукових журналах. Усі журнали, де надруковані статті автора, відносяться до першого чи другого квартилів (Q1, Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports. Серед цих журналів – такі високоавторитетні як, зокрема, Nucleic Acids Research та PNAS. Висока якість публікацій автоматично свідчить про надійну апробацію дисертації з боку міжнародної експертної спільноти. Варто зазначити також, що, згідно наукометричної бази Scopus, роботи дисертанта мають 835 цитувань, h-індекс дорівнює 15.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи.

Принципових зауважень до роботи немає. Слід сказати тільки, що формулювання теми роботи представляється не зовсім вдалим: слово "компоненти" може бути віднесеним і до комплексів, і до апарату

трансляції; всі досліджені білки є компонентами системи трансляції, але не всі – її елонгації. Більш точною була б, наприклад, назва "Структурно-функціональна організація макромолекулярних комплексів апарату трансляції ссавців".

Крім того, під час ознайомлення із дисертаційною роботою виникло кілька запитань загального плану.

1. Амінокислотні послідовності паралогів eEF1A1 і eEF1A2 є подібними на 97%. Чим можна пояснити, за такого високого ступеня подібності, достатньо суттєві структурні відмінності між ними (різницю у радіусі гірації більше ніж в 2 рази)?

2. Не зовсім зрозуміло, як збереження контакту eEF1A1 з аміноацил-тРНК після гідролізу GTP може сприяти акомодації аміноацил-тРНК в А-сайті рибосоми, про що стверджується в авторефераті.

3. Автор справедливо зазначає, що взаємодія комплексу eEF1A1-GTP з аміноацил-тРНК-синтетазами є важливою "для забезпечення векторного (channeling) перенесення аміноацил-тРНК фактором eEF1A від місця її синтезу (аміноацил-тРНК синтетази) до місця її використання (рибосоми)". Яку роль, на думку автора, може відігравати виявлена в роботі взаємодія з аміноацил-тРНК-синтетазами комплексу eEF1A1-GDP, який не може приймати участь у такому перенесенні?

Зрозуміло, що наведені запитання жодним чином не впливають на загальну ***надзвичайно високу*** оцінку розглянутої роботи.

Висновок. Вважаю, що дисертаційна робота Шалака В'ячеслава Федоровича "Структурно-функціональна організація макромолекулярних комплексів і їх компонентів апарату елонгації трансляції у ссавців" виконана на надзвичайно високому науковому рівні, не порушує принципів академічної доброчесності та є завершеним науковим дослідженням, сукупність теоретичних і практичних результатів якого розв'язує наукові проблеми, що мають істотне значення для молекулярної біології. Дисертаційна робота повністю відповідає самим високим вимогам щодо докторських дисертацій, у тому числі вимогам, передбаченим "Порядком присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук" (Постанова Кабінету Міністрів України № 1197 від 17.02.2021, зі змінами, внесеними згідно Постанов Кабінету Міністрів України № 502 від 19.05.2023 і № 507 від 03.05.2024), наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 "Про затвердження вимог до оформлення

дисертацій", наказом МОН України № 1220 від 23.09.2019 "Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук" (зі змінами згідно наказів МОН України № 496 від 27.05.2022 і № 285 від 08.03.2024). Автор роботи, Шалак В'ячеслав Федорович, безумовно заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Офіційний опонент,
доктор біологічних наук, професор,
професор ННЦ "Інститут біології та медицини"
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка

Андрій СИВОЛОБ

Підпис_____засвідчую

Навчально-науковий центр "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ"

підпис/прізвище та ініціали посадової особи, що засвідчує підпис

5 вересня 2025 р.