

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Лавриненка Кирила Дмитровича

«Взаємодія Caprin1 і G3BP1 сприяє G3BP1-опосередкованому рекрутуванню мРНК до стресових гранул», представлену на здобуття наукового ступеня Доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Актуальність теми дисертації. Дисертаційна робота Лавриненка К.Д. присвячена актуальній проблемі сучасної молекулярної та клітинної біології – втвченню функціональних наслідків взаємодії між протеїнами G3BP1 і Caprin1, а саме – ролі цієї взаємодії у формуванні так званих стресових гранул – (СГ). Ras GTPase-activating protein-binding protein 1 (G3BP1) є РНК-зв'язуючим білком, який сприяє утворенню СГ – цитоплазматичних агрегатів, що утворюються після трансляційного стресу. Робота присвячена з'ясуванню молекулярних механізмів рекрутингу мРНК до СГ за участі протеїнів G3BP1 і Caprin1. Це важливо для регуляції клітинного сигналіngu RAS, тобто, для успішної проліферації клітини. На підставі вище сказаного, актуальність представленої роботи не викликає сумнівів. Я вважаю, що дослідження взаємодії між протеїнами G3BP1 і Caprin1, а також проведення аналізу властивості білків та їх комплексу зв'язуватися з РНК є актуальним та важливим. Також важливою і актуальною задачею є вивчення властивостей гетеродимера у рекрутингу мРНК до СГ.

Оцінка достовірності, ступеню обґрунтованості і новизни наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Метою представленої дисертаційної роботи було дослідження взаємодії G3BP1 з Caprin1 *in vivo* та *in vitro*, визначення РНК-зв'язувальні властивості обох білків і їх комплексу та його ролі у рекрутингу мРНК до СГ.

Для виконання поставлених задач дисертант застосував сучасні методи дослідження, включаючи методи молекулярної, клітинної та структурної

біології: культивування клітин HeLa, трансфекцію і siRNA-опосередковане зниження експресії *G3BP1*, імуофлуоресцентне фарбування та *in situ* гібридизацію мРНК, високопродуктивну мікроскопію, microtubule bench assay, add-back експерименти, клонування, експресію й очищення рекомбінантних білків, ко-імунопреципітацію, вестерн-блот аналіз, EMSA, атомно-силову мікроскопію та статистичну обробку даних.

Достовірність наукових положень, висновків і практичних рекомендацій дисертаційної роботи обґрунтовано вдало обраним комплексом методологічних підходів для досягнення поставленої мети та вирішення завдань дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна результатів дисертації Лавриненка К.Д. полягає у тому, що показано, що рекрутинг Caprin1 і мРНК до СГ залежить від функціональності G3BP1. Встановлено, що надекспресія протеїна Caprin1 сприяє рекрутингу мРНК до G3BP1-вмісних СГ, а спільна присутність G3BP1 і Caprin1 *in vitro* призводить до крупніших РНК-збагачених комплексів. Аналіз доменів G3BP1 показав важливість N-кінцевої ділянки для взаємодії з Caprin1 та C-кінцевих РНК-зв'язувальних елементів для рекрутингу мРНК. Встановлено також важливу роль домена IDR2 у підтриманні конформації та РНК-зв'язувальної здатності білка G3BP1. Тобто, Caprin1 діє як регуляторний ко-фактор, що підсилює здатність G3BP1 залучати мРНК, але не замінює прямого зв'язування G3BP1 з РНК.

Отримані результати доповнюють сучасну модель, що описує формування СГ, і є важливими для подальшого вивчення ролі СГ у процесах життєдіяльності клітин.

Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення отриманих результатів полягає у розширенні сучасних уявлень про молекулярні механізми формування СГ. Охарактеризовані функціональні наслідки взаємодії між G3BP1 і Caprin1 є експериментальним підґрунтям для подальших досліджень механізмів рекрутингу специфічних мРНК до СГ.

Більше того, отримані результати є важливими для встановлення ролі СГ при порушенні регуляції життєдіяльності клітин.

Мова та стиль викладення результатів. Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях. Дисертаційна робота написана англійською мовою науковим стилем. Основні положення та результати дисертації повністю висвітлені у наукових працях та оприлюднені на наукових конференціях та викладені у трьох наукових роботах: 2-х статтях у провідних фахових виданнях, затверджених МОН України, 1 – тези доповідей. Основний зміст дисертаційної роботи повністю відображено в опублікованих наукових працях. **Оцінка змісту дисертації.** Дисертація оформлена із дотриманням існуючих правил, відповідно до вимог наказу МОН України від 12 січня 2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації». Дисертаційна робота побудована за традиційною схемою, складається з Вступу, Огляду літератури, розділів Матеріали та методи досліджень, Результати експериментальних досліджень (три частини), Аналіз та узагальнення результатів та Висновків. **У Вступі** автор ґрунтовно означив актуальність обраної теми, сформулював мету і задачі, розкрив її наукову новизну і практичне значення. **Огляд літератури** структурований і складається із 3-х підрозділів, у яких автор проаналізував більшість вагомих літературних першоджерел з теми дослідження. Так, детально обговорено структуру, посттрансляційні модифікації, ензиматичну активність та відомі функції протеїну G3BP1, відомі взаємодії даного протеїну та білка Caprin1, а також відомі дані щодо асоціації цих протеїнів (генів) при патологічних станах.

Практично всі найбільш вагомі наукові джерела за останніх 5 – 10 років було включено в аналіз. Огляд літератури змістовний, логічно побудований, аргументовано викладений.

У другому розділі «Матеріали та методи досліджень» представлено методи, які було застосовано для вивчення функціональних наслідків взаємодії між протеїнами G3BP1 і Caprin1. Детально описано експериментальні моделі *in*

vitro та *in vivo*. Загалом алгоритм дослідження є вдалим та цілком виправдовує поставлену мету.

У третьому розділі викладено результати власних досліджень; цей розділ є найбільш фундаментальним з точки зору залучення сучасних молекулярно-біологічних методів та демонструє оволодіння дисертантом усіма сучасними лабораторними методами, вміння глобального аналізу зібраного матеріалу для вивчення взаємодії G3BP1 з Caprin1 *in vivo* та *in vitro*, визначення РНК-зв'язувальні властивості обох білків і їх комплексу та його ролі у рекрутингу мРНК до СГ.

У четвертому розділі «Аналіз та узагальнення результатів» дисертаційної роботи, проведено аналіз отриманих результатів. Автор, інтегруючи результати власних досліджень, зводить їх у єдину систему, зіставляє з даними джерел літератури, а також висловлює власні міркування щодо сучасної моделі формування СГ та їх ролі у процесах життєдіяльності клітин. У цьому розділі надається можливість у цілому охопити масштабну наукову роботу дисертанта, простежити за умотивованою послідовністю реалізованих дослідницьких кроків, усвідомити основні положення, їх інтерпретацію та з'ясувати зв'язок з наступними висновками, які сформульовано у семи пунктах, які повністю відповідають меті, задачам та результатам проведеного дослідження. Вірогідність одержаних результатів підтверджена їх адекватною статистичною обробкою.

Оприлюднення результатів дисертаційної роботи. Основні наукові результати дисертаційної роботи повністю висвітлені у наукових працях та оприлюднені на наукових конференціях та викладені у 3-х наукових роботах: 2-х статтях у провідних фахових виданнях, затверджених МОН України, і у 1 тезах доповідей. Основний зміст дисертаційної роботи повністю відображено в опублікованих наукових працях.

Недоліки та зауваження до дисертаційної роботи. В дисертації мають місце окремі орфографічні помилки, які не перешкоджають адекватному

сприйняттю результатів роботи і не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи.

Втім, є питання, що стосуються розподілення методів на методи *in vitro* та *in vivo*. Я не бачу різниці між клонуванням і ампліфікацією і виділенням плазмідної ДНК та індукцією і очисткою злитих протеїнів. Тим не менш, виділення ДНК віднесено до методів *in vivo*, а виділення білка – до методів *in vitro*. В принципі, до методів *in vivo* зазвичай відносять експерименти із тваринами, інколи – з культурами клітин, як в даній роботі. Проте експерименти в пробірках з нуклеїновими кислотами є експериментами *in vitro*. Таке ж зауваження можна зробити до методу імуофлуоресцентного фарбування та флуоресцентної мікроскопії, що не є методом *in vivo*.

Ще одне питання стосується вибору ліній клітин. Частина експериментів виконана з використання лінії клітин HeLa, отриманої із пухлини шийки матки, а частина – з використанням лінії клітин HEC – іморталізованих клітин ембріональної нирки. Не зовсім ясно, чим обумовлено такий вибір клітинних ліній.

Також у роботі часом зустрічаються подібні схеми (наприклад, рис. 2.1 і 2.2 відрізняються лише конструктами із різними флуорофорами).

У цілому висловлені зауваження не є визначальними, не зменшують наукову новизну і практичну значимість результатів та не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи.

Висновок про дисертаційну роботу

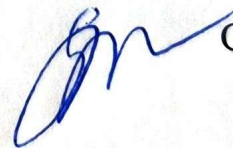
Вважаю, що дисертаційна робота здобувача ступеня Доктора філософії **Лавриненка Кирила Дмитровича** «Взаємодія Caprin1 і G3BP1 сприяє G3BP1-опосередкованому рекрутуванню мРНК до стресових гранул» виконана на високому науковому рівні, не порушує принципів академічної доброчесності, є завершеним елегантним науковим дослідженням, сукупність теоретичних та практичних експериментальних результатів якого розв'язує важливі наукові проблеми, що мають істотне значення для біології. Тобто, на

підставі оцінювання роботи за рівнем рівня наукової новизни, системності узагальнень і практичної цінності результатів, методологічної ґрунтовності та дотримання усіх формальних критеріїв вважаю, що представлене дисертаційне дослідження повністю відповідає чинним вимогам чинного законодавства України, що передбачені у пп. 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 17.11.2021 №1197 (із змінами, внесеними згідно з Постановами КМ №507 від 03.05.2024 і №928 від 30.07.2025) та наказу МОН України від 23.09.2019 №1220 (із змінами та доповненнями).

Здобувач Лавриненко Кирило Дмитрович зробив цінний особистий внесок у науковий напрям «молекулярні механізми взаємодії білків і РНК» і заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія і біохімія.

Офіційний опонент:

Кашуба Олена Віталіївна, завідувачка лабораторії молекулярних механізмів трансформації клітини Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є Кавецького НАН України
професор, д.б.н.



Олена КАШУБА

