ВИСНОВОК

наукового керівника про дисертаційну роботу

Ніколаєва Романа Олександровича

На тему «Особливості білок-лігандних взаємодій моно- та олігонуклеотидів з інтерфероном»

представлену на здобуття **ступеня доктора філософії**

в галузі знань **09 – Біологія**

за спеціальністю **091 – Біологія та біохімія**

1. Загальна характеристика здобувача

Ніколаєв Роман Олександрович вступив до аспірантури Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (ІМБГ НАН України) у 2016 році після закінчення Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича, де здобув ступінь вищої освіти — магістра (спеціальність – біохімія). Диплом захистив на «відмінно». Навчання та наукову діяльність Роман здійснював під моїм науковим керівництвом у лабораторії інноваційних біотехнологій відділу ензимології білкового синтезу ІМБГ НАН України. Під час роботи над дисертацією здобувач сформував ґрунтовні теоретичні знання, опанував комплекс експериментальних і розрахункових підходів до вивчення білок-лігандних взаємодій та продемонстрував здатність до самостійного аналізу наукових проблем. Здобувач виявив наполегливість у проведенні досліджень, відповідальність під час опрацювання експериментальних даних і критичний підхід до інтерпретації результатів. Він здатний зіставляти дані різних методів, обґрунтовувати вибір моделей та розмежовувати експериментально встановлені закономірності й механістичні припущення. Робота над дисертацією засвідчила його професійне становлення як дослідника білково-нуклеотидних систем.

2. Виконання освітньо-наукової програми

Освітньо-наукову програму підготовки доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія здобувач виконав у повному обсязі.

3. Виконання індивідуального плану наукової роботи

Індивідуальний план наукової роботи Ніколаєва Р.О. був затверджений рішенням вченої ради ІМБГ НАН України і виконаний в повному обсязі. Здобувач набув теоретичних знань, умінь, навичок і компетентностей відповідно до ОНП та Національної рамки кваліфікацій. Дослідження виконувалося послідовно відповідно до поставленої мети й визначених завдань. Здобувач опрацював літературні джерела, провів експериментальні та розрахункові дослідження, систематизував отримані дані, підготував для обговорення та сформулював висновки. Основні результати узагальнено в дисертаційному рукописі та представлено в наукових працях і матеріалах конференцій.

4. Актуальність дисертації, мета та завдання дисертації

Актуальність роботи визначається необхідністю встановлення молекулярних закономірностей взаємодії природних нуклеотидних лігандів із сигнальними білками. Інтерферон α-2b є важливим компонентом противірусної та імунорегуляторної відповіді, а його молекулярне розпізнавання залежить від конформаційного стану та властивостей рецептор-зв'язувальних

поверхонь. Водночас вплив моно- та олігорибонуклеотидів, їх іонного оточення і композицій з D-манітолом на фізико-хімічні характеристики інтерферону потребував систематичного дослідження.

Мета дисертаційної роботи – експериментально обґрунтувати концепцію олігонуклеотидів і нуклеозидмонофосфатів як молекулярних мікромодуляторів конформаційної пластичності IFNα-2b та встановити, як структура ліганда, його іонно-гідратаційне оточення, D-манітол і стан білкової мішені визначають зв'язування, термодинамічний режим і конформаційну відповідь білка.

Для досягнення мети досліджено параметри взаємодії IFNα-2b з нуклеотидними лігандами; проаналізовано флуоресцентну відповідь і механізми гасіння; охарактеризовано теплові ефекти комплексоутворення; оцінено зміни вторинної структури, термічної поведінки та агрегаційно чутливих характеристик білка. Окремо розглянуто вплив D-манітолу, відмінності між кислотними й натрієвими препаративними формами, а також залежність відповіді від стану системи IFNα-2b/IFNAR1 і порядку додавання компонентів. Експериментальні закономірності зіставлено з результатами математичного моделювання та молекулярного докінгу.

5. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Зміст дисертації відповідає напряму науково-дослідних робіт ензимології білкового синтезу Інституту молекулярної біології і генетики НАН України і виконувалась в рамках бюджетних тематик: «Вивчення впливу олігонуклеотидів на сигнальні білки та експресію генів вродженого імунітету» (шифр теми – 2.2.4.15, номер державної реєстрації 0113U002779, 2014-2018 рр.); пошукова тема «Вивчення природних та синтетичних олігонуклеотидів як потенційних інгібіторів системи рецептор PD1- ліганд PD-L1» (шифр теми – 2.2.4.15, номер державної реєстрації 0118U004955, 2019-2020 рр.); конкурсна тема «Комбіновані тест-системи для діагностики та аналізу експресії генів вродженого імунітету при особливо небезпечних вірусних інфекціях» Національного фонду досліджень України «Наука для безпеки людини та суспільства» (шифр теми – 2020.01/0091, номер державної реєстрації 0120U104574, 2020-2021 рр.); відомча тема «Вивчення експресії генів вродженого імунітету та їх регуляції при особливо небезпечних вірусних захворюваннях» (шифр теми – 2.2.4.15, номер державної реєстрації 0121U112029, 2021-2025 рр.); конкурсна тема «Визначення клінічно-значущих мутацій генів у зразках злоякісних новоутворень українських пацієнтів для розроблення діагностикумів та встановлення фармакологічної резистентності пухлин до ліків» Національного фонду досліджень України «Наука для безпеки і сталого розвитку України» (шифр теми – 10/0024, номер державної реєстрації 0123U103186, 2023-2025 рр.). Дисертація розвиває фізико-хімічний аспект цих досліджень, зосереджуючись на молекулярному розпізнаванні та конформаційній відповіді білкової мішені.

6. Наукові положення, розроблені особисто здобувачем, та їх новизна

Основним науковим результатом дисертації є комплексне обґрунтування уявлення про нуклеотидні ліганди як потенційні мікромодулятори конформаційного ансамблю IFNα-2b. У межах єдиного дослідження зіставлено взаємодію чотирьох основних нуклеозидмонофосфатів, олігонуклеотидів та їх композицій з D-манітолом із використанням методів, чутливих до різних рівнів організації молекулярної системи.

Встановлено, що структура нуклеотиду та його препаративна форма впливають на видиму афінність і теплові ефекти взаємодії з IFNα-2b. Для більшості досліджених кислотних форм характерна вища видима афінність порівняно з натрієвими формами, однак ці відмінності обґрунтовано розглядаються як результат сукупного впливу протонного стану, протиіонів, гідратації та десольватації.

Показано селективний характер впливу D-манітолу: напрям і величина його ефекту залежать від природи нуклеотиду, препаративної форми та складу білкової системи. Спектральні дані узгоджуються з перебудовою гідратаційного й воднево-зв'язувального мікрооточення лігандів. Це поглиблює уявлення про роль поліолу в багатокомпонентних системах і дає підстави оцінювати його дію окремо для кожної композиції.

Виявлено залежні від складу системи зміни спектрально оцінених компонентів вторинної структури та термофлуоресцентних характеристик IFNα-2b. Їх інтерпретовано як ознаки перерозподілу конформаційного ансамблю з урахуванням методичних обмежень. Порівняння ізольованих білкових компонентів і системи після попередньої інкубації IFNα-2b з IFNAR1 продемонструвало залежність нуклеотидного розпізнавання від стану мішені та порядку складання системи.

Для узагальнення результатів запропоновано трирівневу модель, яка поєднує безпосередні нековалентні контакти, вплив іонно-гідратаційного середовища та зміщення конформаційного ансамблю білка. Практичне значення роботи полягає у визначенні фізико-хімічних критеріїв дослідження нуклеотид-білкових композицій і плануванні їх подальшої функціональної перевірки. Можливий вплив на рецепторне розпізнавання та сигнальну активність обґрунтовано сформульовано як перспективу подальших досліджень.

7. Ступінь обґрунтованості та достовірності висновків, повнота опублікованих результатів дисертації, кількість наукових публікацій та конкретний особистий внесок здобувача

Обґрунтованість наукових положень забезпечується поєднанням взаємодоповнювальних методів: стаціонарної та часороздільної флуоресцентної спектроскопії, флуоресцентної анізотропії, кругового дихроїзму, УФ-видимої, ІЧ- та ^{1}H ЯМР-спектроскопії, калориметрії, термофлуоресцентного й ThT-аналізу, багатовимірного розділення спектральних даних та розрахункових підходів. Суттєвою перевагою роботи є зіставлення результатів різної фізичної природи й урахування меж інтерпретації кожного методу.

Здобувач розмежовує видимі параметри зв'язування та мікроскопічні константи, спектральні ознаки й функціональні наслідки, а також модельні припущення та експериментальні спостереження. Порівняння альтернативних моделей використано для оцінювання якості опису даних і визначення меж ідентифікації параметрів. Такий підхід підвищує обґрунтованість сформульованих висновків.

Основні результати отримано здобувачем особисто або за його безпосередньої участі. Він брав участь у плануванні досліджень, підготовці зразків, проведенні вимірювань, обробці та статистичному аналізі даних, математичному моделюванні, аналізі літератури та підготовці публікацій. Головну ідею і завдання роботи сформульовано спільно з науковим керівником; результати обговорено зі співавторами відповідних наукових праць.

Результати оприлюднено в наукових статтях і матеріалах міжнародних та всеукраїнських конференцій. Зокрема, положення роботи апробовано на конгресах FEBS, Українському біохімічному конгресі, конференціях молодих учених ІМБГ НАН України, міжнародних електронних конференціях із медичної хімії та конференції BioGENext. Результати даного наукового дослідження опубліковано у 5 статтях, 1 з них у закордонному виданні Q2, з них 4 – у фахових виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз, 1 патент, а також представлено у 16 тезах наукових доповідей, опублікованих у збірниках українських та міжнародних конференцій.

8. Єдність змісту роботи, оцінка мови та стилю дисертації

Дисертація об'єднана спільною метою та послідовною логікою дослідження: від характеристики лігандів і параметрів зв'язування до аналізу конформаційної відповіді білка та інтеграції результатів у загальну модель. Літературний огляд формує теоретичне підґрунтя, опис методів відповідає поставленим завданням, а результати, обговорення й узагальнення розкривають взаємозв'язок експериментальних спостережень. Роботу викладено українською мовою з використанням фахової біохімічної та біофізичної термінології. Таблиці, рисунки й додаткові матеріали забезпечують представлення експериментальних і розрахункових даних. Висновки відображають основні результати та відповідають меті дослідження. Загалом дисертація становить цілісну кваліфікаційну наукову працю. Оформлення роботи відповідає вимогам, встановленим для дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії. Загалом, дисертація є завершеним науковим дослідженням, що відповідає профілю спеціальності 091 – Біологія та біохімія.

9. Характеристика академічної доброчесності здобувача

У процесі виконання дослідження, підготовки дисертації та наукових публікацій Ніколаєв Р. О. приділяв належну увагу коректному використанню джерел, відображенню особистого внеску та розмежуванню власних результатів і даних інших авторів. Дисертаційний рукопис містить посилання на використані наукові джерела та декларацію щодо результатів власних досліджень.

10. Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Ніколаєва Романа Олександровича «Особливості білок-лігандних взаємодій моно- та олігонуклеотидів з інтерфероном» є завершеним науковим дослідженням, у якому розв'язано актуальне завдання встановлення фізико-хімічних закономірностей взаємодії нуклеотидних лігандів з IFNα-2b та їхнього зв'язку з конформаційною відповіддю білка. Отримані результати мають наукову новизну, поглиблюють розуміння білково-нуклеотидного розпізнавання та визначають напрями подальшої функціональної перевірки запропонованої моделі.

Робота засвідчує здатність здобувача самостійно проводити наукові дослідження, застосовувати сучасні методи, критично оцінювати дані та формулювати обґрунтовані висновки. За актуальністю, науковою новизною, обсягом виконаних досліджень та значенням одержаних результатів позитивно оцінюю дисертаційну роботу та рекомендую її до публічної презентації наукових результатів і подальшого розгляду для захисту на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія в галузі знань 09 – Біологія.

Науковий керівник:

к.б.н., с.н.с. завідувач лабораторії інноваційних

біотехнологій відділу ензимології білкового синтезу

Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

07 жовтня 2026 Зеновій ТКАЧУК

Підпис Ткачука З.О. посвідчується

Зовн. канц. Ін Молбіогенетики