Відгук отриманий 26.07.2021р.
Голова спеціалізованої
вченої ради ДФ 64.051.018
Баранник Євген

Голові спеціалізованої вченої ради
ДФ 64.051.018
Харківського національного
університету імені В.Н. Каразіна
61022, м. Харків, майдан Свободи, 4

ВІДГУК

опонента, завідувача відділу наноструктурних матеріалів імені Ю. В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, члена-кореспондента НАН України, доктора фізико-математичних наук, професора Єфімової Світлани Леонідівни на дисертаційну роботу Тарабари Уляни Костянтинівни «Спектроскопічне та молекулярно-динамічне дослідження фібрилярних агрегатів білків», яка подана на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 105 – «Прикладна фізика та наноматеріали»

Актуальність теми дисертації. Однією із найактуальніших проблем сучасної фізики біополімерів є з'ясування молекулярних механізмів впливу різноманітних чинників на структурно-функціональні характеристики білкових молекул. Серед широкого спектру таких характеристик особливу увагу привертає здатність білків до самоасоціації. Ця здатність є фундаментальною властивістю поліпептидного ланцюга, яка проявляється як у внутрішньомолекулярних взаємодіях, відповідальних за фолдинг поліпептиду у функціонально активний нативний стан, так і у міжмолекулярних контактах, які обумовлюють агрегацію білка. Згідно з сучасними уявленнями, агрегація вважається альтернативою фолдингу, тому що утворення внутрішньо- та міжланцюгових зв'язків контролюється однаковими силами, серед яких домінуючу роль відіграють гідрофобний ефект, водневі зв'язки, електростатичні контакти та ван-дер-Ваальсові взаємодії. Загальновизнаною є гіпотеза, що розглядає структурну

трансформацію поліпептидного ланцюга в нестабільну агрегаційно-компетентну конформацію як критичну передумову для ініціації процесу самоасоціації білків. Імовірність такої трансформації досить висока, оскільки компактність нативного стану забезпечується балансом між втратою конфігураційної ентропії у процесі фолдингу білка та відштовхувальними електростатичними взаємодіями. Внаслідок несуттєвої різниці між стабілізуючими та дестабілізуючими силами, навіть незначні варіації фізико-хімічних властивостей локального мікрооточення білка можуть призвести до його переходу із мономерного в агрегований стан. Останнім часом увага вчених прикута до розшифровки молекулярних механізмів, відповідальних за утворення структурно-нефункціональних білкових агрегатів, амілоїдних фібрил, формування яких пов'язане із розвитком ряду захворювань людини, включаючи хвороби Альцгеймера, Паркінсона, Хантінгтона, діабет другого типу, ревматоїдний артрит, губчасті енцефалопатії (пріонні хвороби), тощо. У світлі цього, дисертаційна робота Тарабари У. К. набуває надзвичайної актуальності та наукової цінності, адже дослідження, що спрямовані на з'ясування молекулярних механізмів структурного переходу білків із нативної конформації в агрегований фібрилярний стан, створюють передумови для формування єдиної концептуальної моделі фібрилогенезу.

Ступінь обґрунтованості та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації обумовлені сукупністю наукової парадигми й теоретичної концептуалізації наукових досліджень, організацією експериментальної роботи із залученням надійних методів дослідження, адекватних до поставлених у роботі задач, коректною статистичною обробкою отриманих емпіричних результатів. Достовірність отриманих даних базується на обробці значних масивів даних, використанні перевірених теоретичних моделей та доброму узгодженні отриманих результатів із експериментальними та теоретичними даними інших дослідників.

Новизна одержаних результатів полягає у наступному:

1. Вперше досліджено спектральні властивості та агрегаційну поведінку новосинтезованих ціанінових барвників, представників класів гепта- та триметинів, у присутності нативних та фібрилярних білків та сформульовано модель зсуву рівноваги між різними формами барвника.
2. Вперше виявлено кореляцію між наявністю ОН-груп аліфатичних замісників на атомі азоту бензотіазолового кільця та амілоїдною специфічністю цих барвників.
3. Вперше методом каскадного індуктивно-резонансного переносу енергії охарактеризовано фібрилярну конформацію білкових молекул та ідентифіковано морфологічні особливості різних лінійних агрегатів білків.
4. Вперше на основі даних молекулярно-динамічного моделювання встановлено, що амілоїдогенні мутації лізоциму та інсуліну впливають на структурні параметри поліпептидного ланцюга.

У дисертаційній роботі з використанням низки експериментальних та теоретичних методів ***одержано новий прикладний результат***, який полягає у детальній характеризації процесу структурної трансформації білкових молекул із нативного у фібрилярний стан.

Дисертація є завершеною, самостійно написаною кваліфікаційною працею, що містить сукупність нових науково обґрунтованих результатів, які представлені автором для публічного захисту. Дисертаційне дослідження не містить плагіату та відповідає вимогам академічної доброчесності.

Рекомендації з практичного використання одержаних автором наукових результатів роботи. Результати роботи можуть мати застосування у біомедичній практиці, зокрема при створенні нових анти-амілоїдних стратегій та розробці нових лікарських засобів для профілактики та терапії амілоїдних хвороб. Відібрані у роботі флуорофори з високою специфічністю до амілоїдів можуть бути застосовані при дизайні

мультихромофорних та мультипараметричних біосенсорних систем для ранньої діагностики захворювань, пов'язаних із акумуляцією амілоїдних фібрил в організмі людини.

Зміст дисертації логічний, ***дисертаційна робота має завершений вигляд, оформлена*** відповідно до вимог Міністерства освіти і науки України. Дисертація складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел, що містить 468 найменувань, та додатку.

Повнота викладення основних результатів дисертації в опублчкованих працях. Основний зміст дисертаційної роботи відображений в 24 наукових працях, з яких 3 статті у фахових виданнях України, 4 статті у фаховому вітчизняному та виданнях інших країн, що індексуються в наукометричній базі SCOPUS, 16 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях та одна стаття, яка додатково відображає наукові результати дисертації.

Дискусійні положення та зауваження до дисертаційної роботи. Незважаючи на загальну високо позитивну оцінку викладених у дисертації положень, висновків та рекомендацій, робота містить ряд недоліків та зауважень. До них, зокрема, можна віднести наступні:

1. На стор. 96 автор зазначає, що «*в присутності фібрил лізоциму адекватно відтворити спектральну поведінку барвника АК7-5 можна в межах припущень Варіанта 2, а АК7-6 – Варіанта 4*». Чим можна пояснити різницю у спостережуваних явищах для двох барвників?
2. Рис. 3.2, 3.3, 3.5 та 3.7 не містять похибки вимірювання та розрахунків, а це може трохи ускладнювати достовірний аналіз отриманих даних.
3. На рис. 3.10 зображено найбільш енергетично вигідні комплекси мономерів та Н-димерів барвників АК7-5/АК7-6 з нативним лізоцимом, отримані за допомогою PatchDock та FireDock серверів. Однак мономер барвника, представлений на рис. 3.10А, за лінійними розмірами перевищує мономерну субодиницю того ж самого барвника у складі Н-димеру, представленого на рис. 3.10В. При цьому розмір молекули

лізоциму приблизно однаковий на усіх чотирьох панелях рис. 3.10. Якими є реальні геометричні параметри барвника АК7-5 відносно нативної молекули білка? Якщо на рис. 3.10В було зроблено масштабування молекули барвника у порівнянні із рис. 3.10А, то варто було б тоді зробити аналогічну процедуру також і з білком.

4. Розділ 3 присвячений дослідженню зв'язування ціанінових гептаметинових та триметинових барвників з амілоїдними фібрилами лізоциму та інсуліну. Автором дослідження не вказано, чому саме ці барвники були взяті для подібних досліджень, чи були передумови їх використання як потенційних амілоїдних маркерів на основі хімічної структури барвників.
5. У Розділі 4 розглядався перенос енергії з Тіофлавіну Т на скваратіновий барвник SQ1, тобто зсув максимуму емісії становив майже 200 нм. Відомо, що інтенсивність випромінювання джерела світла, пропускна здатність оптичного приладу та чутливість фотопомножувача сильно залежать від довжини хвилі, що спотворює форму вимірюваних спектрів. Автором не було вказано, чи проводилась корекція спектрів флуоресценції з метою усунення впливу вищевказаних чинників, що в такому широкому діапазоні довжин хвиль могло мати критичні наслідки для інтерпретації отриманих результатів.

Однак, зазначені зауваження ***не знижують високий науковий рівень*** дисертаційної роботи та її практичну цінність, і ***не впливають*** на загальну позитивну оцінку проведеного дослідження.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Тарабари Уляни Костянтинівни «Спектроскопічне та молекулярно-динамічне дослідження фібрилярних агрегатів білків» є завершеною науковою працею, результатом якої є отримання нових, систематизованих та науково обґрунтованих результатів, що дозволяють розв'язати складну наукову задачу, пов'язану із детектуванням та структурним аналізом амілоїдних фібрил.

Зміст дисертаційної роботи відповідає спеціальності 105 – «Прикладна фізика та наноматеріали», задовольняє вимогам «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії» (постанова Кабінету Міністрів України №167 від 06.03.2019 р. зі змінами), а її авторка – Тарабара Уляна Костянтинівна заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 10 – природничі науки за спеціальністю 105 – «Прикладна фізика та наноматеріали».

Опонент

Завідувач відділу наноструктурних
матеріалів імені Ю. В. Малюкіна
Інституту сцинтиляційних
матеріалів НАН України,
член-кореспондент НАН України,
доктор фізико-математичних наук,
професор Світлана ЄФІМОВА

Справжність підписи Єфімової С. Л. – засвідчую
Начальник відділу кадрів
ІСМА НАН України
Бондуматова О.В.
26.07.2021