

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Пидюри Миколи Олександровича «Аналіз структурної організації родини генів тубулінів і целюлозосинтаз льону та взаємозв'язку їх експресії у ході формування целюлозного волокна», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

### **Актуальність проблеми.**

Сучасне виробництво пред'являє високі вимоги до рівня врожайності льону та якості льонопродукції. У зв'язку з цим ставляться питання до визначеності генетичної детермінації морфологічних та фізіолого-біохімічних ознак цієї важливої сільськогосподарської культури. У 2010 році було описано більше 130 генів льону, але значна їх частина задіяна у контролі кольору та форми квітки та насіння. Первинний – «draft» варіант секвенованого повного геному льону був отриманий із використанням «whole-genome shotgun» (WGS) на платформі Illumina ще у 2012 році (Wang et al., 2012). Потім було проведене *de novo* асемблювання секвенованих послідовностей, що дозволило з'ясувати розташування для 318 Мб секвенованих послідовностей, що складає ~ 81% від загального еталонного геному льону You et al. (2018). Цією ж групою науковців було показано наявність великої кількості дуплікацій та кластерну організацію багатьох генів. Наявність останнього оновлення даних з секвенування геному льону (версія 2.0) зараз є вагомим геномним ресурсом, який дозволяє проводити ідентифікацію родин генів, досліджувати еволюційні взаємозв'язки та здійснювати структурний аналіз генів. Проте певні кластери генів в геномі льону залишаються недостатньо вивченими, зокрема, гени тубулінів і целюлозосинтаз, що також вірно і для багатьох інших груп рослин. Отримані дисертантом результати сприяють заповненню цієї прогалини і можуть бути використані при генотипуванні сортів льону, а також при вивченні інших генних послідовностей. Отже, обрані тема і мета дисертаційного дослідження видаються важливими та актуальними.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконувалась в рамках бюджетних НДР відділу геноміки та молекулярної біотехнології ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» «Використання Грід для високопропускнуго скринінгу біологічно активних речовин з підвищеною спорідненістю до тубулінів як базової складової реалізації програмних засад віртуальної організації CSLabGrid» (№ ДР 0113U004047, 2011–2013pp.); «Вивчення цитоскелету як критичної мішені для розробки нових агробіотехнологій та пошуку біологічно активних речовин за допомогою засобів геноміки та біоінформатики» (№ ДР 0110U001224, 2010–2014 pp.); «Геноміка та клітинна біологія цитоскелету рослин як інструмент для вивчення його структури і функцій та розвитку нових біотехнологій» (№ ДР 0115U002084, 2015–2019 pp.); «Створення молекулярно-генетичних маркерів для диференціації різних генотипів рослин на основі вивчення поліморфізму інтронів генів їх цитоскелетних білків» (№ ДР 0115U005025, 2017–2019 pp.).

### **Основні результати, отримані дисертантом, їх наукова новизна та практичне значення.**

Наукова новизна дисертаційної роботи М.О. Пидюри полягає в тому, що дисертантом вперше було ідентифіковано та охарактеризовано родини генів  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\gamma$ -тубуліну, актину та целюлозосинтаз льону на основі даних з повногеномного секвенування льону за використання методів біоінформатики. Вперше проаналізовано експресію і взаємодію різних ізотипів генів даних родин льону у ході формування целюлозного волокна. Ідентифіковані послідовності на основі структури та філогенії було віднесено до різних функціональних ізотипів і досліджено їх експресію у різних тканинах на різних стадіях росту у чотирьох сортів льону різних підвидів. Продемонстровано, що у льону відкладання первинної та вторинної клітинної стінки і якість целюлозних волокон корелює з експресією певних ізотипів  $\alpha$ - і  $\beta$ -тубулінів і целюлозосинтаз.

Практичне значення дисертаційної роботи М.О. Пидюри – вдосконалення методики комп’ютерних високопродуктивних біоінформатичних досліджень на обчислювальних кластерах та у Грід, що сприяло значному покращенню продуктивності таких обчислень, як: аналіз послідовностей та моделювання білкових молекул і їх комплексів, молекулярна динаміка, віртуальний скринінг і докінг лігандів. Дисертантом створено систему менеджменту структурно-біологічних даних, яка дозволила автоматизувати обробку, забезпечити накопичення, анотацію і повторне використання даних, отриманих у ході виконання досліджень. Для менеджменту біологічних даних, отриманих в результаті структурного моделювання, дисертантом створено базу даних цитоскелених білків CSMoDB (<http://csmoedb.ifbg.org.ua/comodore/>), присвячену виключно білкам цитоскелету.

Було проведено розробку праймерів, які були використані для оцінки експресії генів  $\alpha$ - і  $\beta$ -тубулінів, актинів і целюлозосинтаз льону.

### **Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій сформульованих у дисертації.**

Сформульовані положення та висновки дисертаційного дослідження ґрунтуються на низці взаємопов’язаних результатів біоінформаційних та експериментальних досліджень. Здобувачем проаналізовано значну кількість літературних джерел, пов’язаних з темою дисертації, серед яких переважають іноземні публікації у рейтингових журналах. Основні положення дисертації, її висновки та рекомендації базуються на достатньому обсязі отриманого матеріалу і є обґрунтованими та достовірними.

Основні положення і результати проведених досліджень сформульовані у 10 висновках, що логічно витікають з отриманих здобувачем експериментальних даних.

### **Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.**

Результати досліджень, представлені в дисертаційній роботі, повністю викладені в опублікованих роботах. За результатами роботи опубліковано 18

наукових робіт, з яких 11 статей в українських та зарубіжних наукових фахових виданнях, зокрема, 3 – у виданнях Q2, та 7 тез доповідей у збірниках матеріалів всеукраїнських та міжнародних наукових конференцій.

### **Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.**

Представлена до захисту дисертаційна робота є оригінальним науковим дослідженням, що, як зазначалося вище, суттєво розширюють наші уявлення про організацію і взаємодію родин генів тубулінів, актинів і целюлозосинтаз льону при синтезі целюлози.

Дисертація складається зі:

Вступу,

Розділу 1. Огляд літератури,

Розділу 2. Матеріали і методи дослідження,

Розділу 3. Пошук та аналіз генів цитоскелетних білків у геномі льону,

Розділу 4. Пошук та аналіз генів целюлозосинтаз у геномі льону

Узагальнення

Висновків

Списку використаних джерел

Додатку, в якому наведено список публікацій здобувача.

Зауваження викликає оформлення роботи. Дисертант представляє роботу в оригінальний спосіб.

За розділом 2. **Матеріали и методи** автор приводить висновок. Було би краще, якби дисертант все ж таки сформував окремий підрозділ результатів дослідження, який би підсумував наведеним висновком. Слід відмітити, що в цьому висновку на стор. 67 до Розділу 2. Матеріали і методи. Дисертант наводить, цитую: «*Висновки*. Наповнення бази даних CSModDB інформацією щодо тривимірних структур таких цитоскелетних білків, як тубуліни, з різних таксономічних груп як паразитичних організмів, так і модельних об'єктів полегшує доступ до такої інформації усіх членів BO CSLabGrid. Це в свою чергу

пришвидшуватиме вирішення наукових та прикладних завдань у галузі дослідження цитоскелету, зокрема, пошук і відбір нових сполук з антимікротрубочковою активністю для подальшого їх застосування як протипухлинних, фунгіцидних, гербіцидних, антипротозойних та протигельмінтних засобів». Звертаю увагу, що мені не вдалося знайти у підрозділі 2.3 «Менеджмент структурно-біологічних та генетичних даних генів білків пов'язаних з цитоскелетом та генів целюлозосинтаз» на стор. 63-67 що саме відноситься до льону або до близькоспоріднених видів. Все ж таки автор міг би додати таку інформацію до тексту дисертаційного підрозділу, щоб краще ув'язати наведені дослідження з темою дисертації.

Підрозділ 2.4. Аналіз експресії генів. не містить посилання на джерела літератури, на які орієнтувався дисертант при експериментальному виконанні – аналізі експресії генів. Але містить опис рослинного матеріалу, який автор аналізує в роботі.

Стор. 70. Не містить ніякої інформації.

Прошу пояснити терміни, які використовує дисертант – гени онологи, млідує?

На стор. 93-94 автор наводить висновки за підрозділом 3.4.5, два абзаци з яких є дійсно висновками з виконаної біоінформаційної роботи. Але у третьому і четвертому абзаци автор вирішив навести цитати з літератури на користь того, що інтронний аналіз важливий для філогенетичного та еволюційного аналізу генів тубулінів та актину. Наскільки мені відомо, у висновках не наводять цитат з джерел літератури.

Прикро, що підрозділу **3.4.5. Висновки**, передує на стор. 92 абзац «Висновки». Який містить повтор тексту з цитатою, що наведена у підрозділі 3.4.5.

На стор. 119 дисертантом вказує, що до *Linum usitatissimum* **генетично близькі** *Populus tomentosa*, *Eucalyptus grandis*, *Brassica napus*, *Gossypium hirsutum*. На чому базується таке твердження окрім порівняння генів послідовностей генів целюлозосинтаз?

Дисертант за деякими підрозділами наводить висновки у тексті дисертації (це підрозділи 3.2, 3.3, 3.4.1, 3.6.1., 4.2., 4.3), а за деякими не наводить?

Але наприкінці роботи у розділі. Висновки наведено висновки на всі поставлені в роботі завдання. Наприклад, підрозділ 3.4. Аналіз генів цитоскелетних білків у геномі льону. підрозділ 3.4.1  $\alpha$ -тубуліни містить висновок на стор. 81, а до інших складових цього підрозділу п.п. 3.4.2  $\beta$ -тубуліни і п.п. 3.4.3  $\gamma$ -тубуліни висновків немає. Також складно знайти логіку за якою дисертант приводить висновки і за іншими підрозділами.

У підрозділі 3.7 Аналіз експресії цитоскелетних білків льону, п.п. 3.7.1  $\alpha$ -тубуліни і п.п. 3.7.2  $\beta$ -тубуліни дисертант не наводить достатньо експериментальних даних, хоча робить посилання на статтю, де є співавтором, і де ці питання обговорюються.

Автор оригінально наводить посилання на джерела наукової літератури в тексті дисертації, і посилання на рисунки і таблиці, втім, обраний дисертантом спосіб не відповідає вимогам ДСТУ 8302:2015. Текст дисертації містить деякі друкарські помилки. У списку використаних джерел зустрічаються порушення вимог ДСТУ 8302:2015.

В цілому робота вражає своєю ємністю, насиченістю, різноспрямованістю вирішених завдань. В роботі дуже сильною є складова з біоінформатики. Сучасна молекулярна генетика базується на даних отриманих з застосуванням біоінформатики і оперує для визначення багатьох питань інструментами біоінформатики і базами даних створеними біоінформатиками, тобто зараз це дві складові одного цілого.

**Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до кандидатських дисертацій.**

Дисертаційна робота Пидюри Миколи Олександровича «Аналіз структурної організації родини генів тубулінів і целюлозосинтаз льону та взаємозв'язку їх експресії у ході формування целюлозного волокна» 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 «Порядку присудження наукових ступенів» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. №567 із змінами, а її автор, Пидюра Микола Олександрович, заслуговує на присудження йому вченого ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

Завідувач кафедри

генетики та молекулярної біології

Одеського національного університету

імені І.І. Мечникова,

член-кореспондент НААН України,

професор,

доктор біологічних наук



С.В. Чеботар

