

О Т З Ы В

на автореферат диссертации

Алемасовой Елизаветы Эдуардовны

“МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ Y-БОКС-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК 1: ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО РОЛИ В РЕПАРАЦИИ ДНК”

на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.01.04 - биохимия.

Актуальность исследования. Исследование репарации повреждений ДНК является актуальным направлением современной молекулярной биологии и необходимо для понимания механизмов ответа клеток на генотоксические факторы, которые приводят к нарушению генетической стабильности и канцерогенезу, а также механизмов резистентности опухолей к препаратам химиотерапии. Эксцизионная репарация оснований (ЭРО) является ключевым механизмом удаления повреждений ДНК, регуляция которого обеспечивается сложной системой взаимодействий между белками, сигнальными молекулами и поттрансляционными модификациями. Все больше экспериментальных данных указывает на существование нескольких альтернативных путей регуляции ЭРО и открываются новые регуляторные белки. Работа Алемасовой Е. Э. посвящена исследованию роли белка YB-1 в регуляции ЭРО. Белок YB-1 является маркером некоторых типов опухолей и участвует в развитии резистентности к химиотерапевтическим препаратам. YB-1 проявляет свойства шаперона нуклеиновых кислот и вовлечен в регуляцию транскрипции, сплайсинга и трансляции мРНК. Однако, точные функции YB-1 в клетке и, в частности, его роль в развитии онкологических заболеваний и химиорезистентности не ясны. На момент начала работы над диссертацией роль YB-1 в репарации повреждений ДНК не была установлена. Таким образом, работа Алемасовой Е.Э. является одной из первых и очень успешных попыток связать функции YB-1 с регуляцией работы ЭРО в ответ на повреждение ДНК.

Оценка новизны и значимости полученных результатов. Работа обладает высокой научной новизной. Большая часть научных результатов была получена автором впервые в мире. В частности, автором впервые было продемонстрировано взаимодействие YB-1 с ключевым регулятором ЭРО — ферментом PARP1 и впервые были получены данные о роли YB-1 в регуляции активности PARP1 на разных этапах поли(АДФ-рибозил)ирования. Показано, что YB-1 является эффектором PARP1, стимулируя синтез поли(АДФ)рибозы PARP1, автоPARилирование PARP1 и снижая эффективность ингибиторов PARP1. Автором также было открыто поли(АДФ-рибозил)ирование YB-1, катализируемое PARP1 в ответ на повреждение ДНК.

В работе было показано, что YB-1 взаимодействует и с другими ключевыми ферментами системы ЭРО, модулируя их активность. Некоторые из этих взаимодействий (например, взаимодействия с PARP2 и NEIL1) были также описаны впервые. Исследования Алемасовой Е. Э. позволили установить, что регуляторная роль YB-1 зависит от структуры ДНК: YB-1 стимулирует расщепление АП-сайтов ферментами APE1 и бифункциональной ДНК-гликозилазой NEIL1 только в ДНК-дуплексах, но не в одноцепочечной ДНК. Автором была также продемонстрирована ключевая роль С-концевого фрагмента (220 — 324 остатка) и С-концевого домена (CTD) YB-1 в функциональных взаимодействиях с ферментами ЭРО. В частности, было показано, что аминокислотные остатки 220 — 324 YB-1 необходим для стимуляции APE1 и NEIL1, а CTD — для стимуляции PARP1.

Полученные автором научные результаты обладают очень высокой научной и практической значимостью. Работа Алемасовой Е. А. раскрывает роль YB-1 в качестве мультифункционального белка-регулятора ЭРО в ответ на повреждение ДНК и позволяет предположить новые механизмы развития химиорезистентности опухолевых клеток со сверхэкспрессией YB-1. Полученные результаты важны для развития дальнейших исследований YB-1 в качестве мишени для противоопухолевой терапии.

Оценка достоверности полученных результатов. Автором было проведено исключительно глубокое и всестороннее исследование роли YB-1 в регуляции ЭРО; была проделана трудоемкая экспериментальная работа с использованием современных биохимических и молекулярно-биологических методов. Е. Э. Алемасовой были проведены исследования функционального взаимодействия YB-1 с целым рядом ключевых белков ЭРО: APE1, ДНК-гликозилазой NEIL1, PARP1 и PARP2. Количественный анализ белок-белковых и ДНК-белковых взаимодействий был проведен с помощью методов задержки комплексов в полиакриламидном геле, методами флуоресцентного титрования с использованием флуоресцентно-меченых производных исследуемых белков и спектроскопии в реальном времени. Картирование доменов, участвующих в белок-белковых взаимодействиях, было проведено с использованием делеционных мутантных форм белков. Открытая в данной работе постраницсионная модификация YB-1 молекулой PAR была подтверждена, как с помощью вестерн блота со специфическими антителами к PAR и YB-1, так и с помощью расщепления PAR поли(АДФ-рибозо-)гликогидролазой. Представленные в работе исследования достоверны, выводы и заключения обоснованы. Результаты диссертационной работы представлены в шести статьях, в том числе опубликованы в четырех работах с первым авторством, что свидетельствует о значительном личном вкладе автора в проведенное исследование.

Замечания. Результаты работы четко и логично изложены в автореферате, но можно отметить незначительные замечания в представлении результатов. Можно было бы порекомендовать добавление к рисунку 8 схемы с расположением функциональных участков YB-1, так как из текста не очень понятно, какими аминокислотными остатками С-концевой мутант YB-1 (AP-CSD) отличается от С-концевой укороченной ядерной формы YB-1(1-219). Не указан тип поврежденной ДНК, использованной в работе при анализе белок-белковых взаимодействий (таблица 1). Эти замечания носят исключительно рекомендательный характер и не снижают очень высокого научного уровня диссертационной работы.

Закключение. Работа представляется актуальной, является законченным научно-исследовательским трудом и выполнена автором самостоятельно на очень высоком научном и методическом уровнях. Автореферат достаточно полно отражает суть исследования и отвечает требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней. Автор Елизавета Эдуардовна Алемасова заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

к.б.н. Макарова Алена Владимировна

зав. группой «Специализированные ДНК-полимеразы»
Института молекулярной генетики РАН
пл. академика Курчатова 2, 123182, Москва

+7-499-196-00-15

amakarova-img@yandex.ru

29. 03. 2018

Подпись А.В. Макаровой заверяю

Научный секретарь ИМГ РАН

Андрева Л.Е.

