

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Гопаненко Александра Витальевича «Новые функции рибосомных белков eS1, uS19 и eL29 человека, выявленные с помощью методов, основанных на высокопроизводительном секвенировании РНК», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Как справедливо пишет автор – рибосомные белки являются неотъемлемой частью рибосом, в составе которых они выполняют структурную функцию, участвуют в формировании их функциональных центров и взаимодействуют с их лигандами. Однако следует заметить, что рибосомные белки в составе рибосом могут играть также важную регуляторную роль (например, eS6). В эукариотических клетках регуляция экспрессии генов рибосомных белков, которые могут выполнять еще и внерибосомные функции, недостаточно изучена, поэтому актуальность диссертационной работы Гопаненко А.В. несомненна.

Ранее в лаборатории д.х.н., проф. Г.Г. Карповой было показано что, эукариот-специфичный рибосомный белок eS1 вовлекается в формирование участка связывания IRES-элемента РНК вируса гепатита С на 40S субчастице, а также в её связывание с фактором инициации трансляции eIF3. Кроме этого eS1 замечен как участник ряда процессов, не относящихся к трансляции, в которых он функционирует вне рибосомы.

В данном исследовании с помощью метода PAR-CLIP диссертантом установлено, что белок eS1 взаимодействует с РНК, которые кодируются генами *RNU11* и *RNU5A-1*. Установлено, что eS1 ассоциирован с пре-мяРНК U11 в ядре и цитоплазме клеток, а также со зрелой U11 мяРНК в составе мяРП U11/U12 – только в ядре. Установлено, что неструктурированный лизин-богатый N-концевой участок eS1 (аминокислоты 9-29) взаимодействует с Sm-сайтом U11 пре-мяРНК и с апикальной петлей I мяРНК U5. С помощью метода РНК-сек показано, что дефицит eS1 в клетках приводит к увеличению доли незрелой U11 пре-мяРНК и снижению эффективности вырезания минорных интронов из пре-мРНК, что указывает на вовлечение этого белка в биогенез мяРНК U11 и в работу малой сплайсосомы.

С использованием метода аффинной модификации ранее в той же лаборатории было установлено, что С-концевой домен другого универсального рибосомного белка – uS19, участвует в формировании декодирующего центра рибосом.

В настоящей работе, применив модифицированный метод PAR-CLIP, включающий ряд элементов протокола рибосомного профайлинга, автор определил районы мРНК, с которыми взаимодействует uS19, находясь в составе транслирующих рибосом. Показано, что данные районы мРНК содержат много кодонов лизина, глутамина и аргинина, на которых рибосомы задерживаются в процессе элонгации трансляции. Наличие контактов белка uS19, защищаемого от взаимодействия с мРНК молекулой тРНК в А-участке, с этими G/A-богатыми районами свидетельствуют о том, что в паузирующих рибосомах А-участок не оккупирован молекулой тРНК, что позволяет кодонам мРНК, оказавшимся в А-участке таких рибосом, взаимодействовать с С-концевым доменом uS19.

Ещё одним интересным примером является эукариот-специфичный рибосомный белок eL29, компонент большой (60S) субчастицы рибосомы, идентифицированный впервые как гепарин-гепаран связывающий белок на поверхности эпителиальных клеток. Отмечают причастность eL29 к различным клеточным процессам, таким как межклеточные взаимодействия, адгезия, пролиферация и дифференцировка. Кроме того, мыши, нокаутные по гену, кодирующему eL29, хотя и оставались жизнеспособными, имели меньший вес, повышенную ломкость костей и ряд других дефектов. Однако клеточные партнёры eL29 и механизмы, посредством которых выключение гена этого белка приводило к подобным дефектам, остались не установленными.

Показано, что снижение уровня рибосомного белка eL29 в клетках НЕК293 всего в 2.5 раза приводит к значительной реорганизации профиля транскриптома клеток, что выражается в изменении экспрессии более 1000 генов. Выявленные дифференциально экспрессируемые гены участвуют в различных клеточных процессах, включая регуляцию биогенеза рибосом, регуляцию трансляции, клеточные пути, ассоциированные со стрессом эндоплазматического ретикулума и апоптозом, и другие. Кроме того, в этом наборе генов присутствуют гены транскрипционных факторов p53 и c-Myc, из чего делается предположение, что дисбаланс eL29 ассоциирован с процессом злокачественной трансформации клеток. При этом жизнеспособность клеток и глобальный уровень трансляции существенно не изменяются, что делает это предположение маловероятным.

Результаты настоящего исследования имеют как теоретическое, так и практическое значение, так как расширяют представление о клеточных процессах у млекопитающих, протекающих с участием рибосомных белков, могут оказаться важными для понимания молекулярных механизмов многих патологий, связанных с дисфункцией рибосомных белков у человека, в том числе рибосомопатий, возникающих из-за нарушений в механизмах, обеспечивающих биогенез рибосом и процесс трансляции.

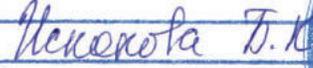
Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Основные положения, результаты и выводы диссертационной работы опубликованы в статьях – в международных научных журналах с высоким импакт фактором, а также докладывались на различных конференциях.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, включая все основные результаты, научные положения, выводы и заключение. Автореферат хорошо оформлен, но абзацные отступы в тексте слишком большие.

Разнообразие и адекватность методических подходов, большой объем полученных новых и достоверных данных, а также их тщательный анализ и осмысление, позволяют считать, что в целом кандидатская диссертация Гопаненко Александра Витальевича «Новые функции рибосомных белков eS1, uS19 и eL29 человека, выявленные с помощью методов, основанных на высокопроизводительном секвенировании РНК», полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, а ее автор несомненно достоин присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Заведующий лабораторией белка и нуклеиновых кислот РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина» КН МОН РК д.б.н., проф.


Искаков Булат Кудайбергенович

Подпись 
Заверяю Главный специалист по кадрам
Института молекулярной биологии и биохимии
им. М.А. Айтхожина КН МОН РК




Почтовый адрес: 050012, г. Алматы, ул. Досмухамедова, д. 86, Казахстан
Телефон служебный: +7(727)239-05-07
Телефон мобильный: +7(771)754-03-64
Электронная почта: bulat.iskakov@mail.ru