

О Т З Ы В

на автореферат диссертационной работы 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

Диссертационная работа была выполнена в Лаборатории структуры и функции рибосом Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, руководимой профессором Г.Г. Карповой. Этот научный коллектив широко известен своими работами в области структуры и функции рибосом и их комплексов с мРНК, в особенности рибосом млекопитающих. Он был и остается лидером в применении методов биоорганической химии к исследованиям рибосом и отдельных компонентов трансляционного аппарата клеток, в частности клеток человека. Диссертация А.В. Гопаненко свидетельствует о том, что теперь в сферу интересов Лаборатории попадает не только изучение целых рибосом, их функциональных центров и трансляционных комплексов, но и исследование отдельных структурных компонентов рибосомы, например рибосомных белков. Важно отметить, что как следует из содержания диссертации, теперь к методам биоорганической химии и молекулярной биологии органически добавлены самые современные полногеномные и полнотранскриптомные технологии, что позволяет расширить сферу поиска новых данных и концепций и увеличить их значимость.

В частности, в этой работе были успешно использованы в дополнение к молекулярно-биологическим методам такие полногеномные подходы как рибосомный профайлинг, РНК-сек и PAR-CLIP, которые требуют серьезной биоинформатической подготовки экспериментаторов для грамотной обработки получаемых результатов. И диссертант продемонстрировал, что такая подготовка у него есть и он способен справляться с большим массивом данных. Ясно, что такие сложные экспериментальные работы, с таким разнообразием использованных экспериментальных подходов не под силу одному человеку, поэтому не удивительно, что в работе участвовали и другие члены лаборатории. Однако важно, что биоинформатический анализ полученных данных, их осмысление в полном объеме, по-видимому, выполнено главным образом самим автором диссертации.

Диссертация А.В. Гопаненко имеет приоритетный новаторский характер по совокупности использованных подходов, с огромным потенциалом на будущие исследования.

Если говорить конкретно, для своих исследований А.В. Гопаненко выбрал три рибосомных белка, для которых имелись хотя бы какие-то сведения в литературе по их РНК-белковым взаимодействиям или их значимости для экспрессии мРНК в клетках, включая данные, ранее добытые в Лаборатории диссертанта (белок uS19). Это рибосомные белки малой субчастицы eS3, только что упомянутый uS19, и белок большой субчастицы рибосом млекопитающих eL29. В результате проделанной работы были установлены следующие интересные факты:

1. Было подтверждено, что белок eS1 имеет весьма важные вне ribосомные функции. Оказалось, что eS1 связан с предшественником РНК U11 (пре-мяРНК) и в ядре, и в цитоплазме, а со зрелой U11 мРНК в составе U11/U12 мяРНК в ядре, то есть что eS1 участвует в биогенезе U11 пре-мяРНК. Понижение концентрации eS1 с помощью метода РНК-интерференции приводит к снижению эффективности сплайсинга некоторых мРНК. В работе хорошо показаны те перестройки в структуре U11 пре-мяРНК, которые происходят при ее

взаимодействии с белком eS1.

2. Автором диссертации и его коллегами показано, что белок uS19 образует комплекс с А-участком мРНК при достижении транслирующей рибосомой кодонов для заряженных аминокислот Lys/Glu и Arg, в результате чего рибосома делает паузу в трансляции. Для других кодонов этого не происходит и взаимодействие белка uS19 с мРНК в А-сайте предотвращается соответствующей А-сайту пептидил — тРНК. Представлено разумное объяснение этому феномену
3. Наконец, показано, что при понижении в клетках человека концентрации белка eL29 (с помощью метода РНК интерференции) способность рибосом к трансляции сохраняется, но происходит повышение или понижение активности определенных генов.

В последнем случае механизм каскада событий, который приводит к повышению или понижению активности определенных мРНК, остается непонятным. Ясно, что он требует дополнительных экспериментов, уже с конкретными модельными мРНК. Однако, это не является недостатком использованного подхода, а наоборот, демонстрирует, что полногеномные подходы позволяют открыть новые интересные феномены, которые в дальнейшем могут быть исследованы в опытах с уже конкретными модельными индивидуальными мРНК.

Подводя итоги, следует отметить, что автор не позволяет себе фантазировать при интерпретации полученных результатов. Выводы делаются достаточно взвешенно, там где точно не показано, предлагаются вполне разумные предположения. В целом работа производит очень хорошее впечатление. Более того, предлагаемые подходы носят пионерский характер, во всяком случае в применении к рибосомам. Полученные результаты адекватно представлены в соответствующих статьях, которые опубликованы в престижных журналах с высоким импакт фактором.

Автор данного Отзыва прочитал автореферат диссертации с большим интересом и удовольствием и у него нет сомнения, что работа А.В. Гопаненко в полной мере отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности молекулярная биология.

Главный научный сотрудник НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, доктор хим. наук

Шатский Иван Николаевич

