# ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Малыгина Алексея Аркадьевича «Структурно-функциональные особенности взаимодействий рибосомных белков человека с различными видами РНК», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Рибосомы являются важнейшими органеллами клетки, осуществляющими процесс синтеза белков, который является одним из главных этапов реализации генетической информации (для белок-кодирующих генов). В целом на синтез белков, включая собственно трансляцию мРНК и процессы биогенеза всех компонентов аппарата трансляции, затрачивается наибольшая часть материальных и энергетических ресурсов клеток.

В настоящее время имеются достаточно подробные данные о структурной организации и расположении различных функциональных центров рибосом прокариотических клеток. Рибосомы эукариот крупнее, сложнее и гораздо менее изучены. В клетках эукариот существуют регуляторные механизмы, которые при стрессах обеспечивают ингибирование рибосомогенеза и синтеза большинства белков, за исключением тех, которые помогают сопротивляться стрессам. Другие механизмы могут стимулировать рибосомогенез и усиливать синтез белков при наступлении благоприятных условий, что обеспечивает рост и деление клеток.

В связи с этим особенно актуальным становится изучение роли таких компонентов рибосом как рибосомные белки, рРНК и их взаимодействие с мРНК, белковыми факторами трансляции, а также регуляции этих процессов.

В лаборатории структуры и функции рибосом ИХБФМ СО РАН под руководством д.х.н., проф. Г.Г. Карповой последовательно проводятся приоритетные исследования по детальному изучению РНК-РНК и РНК-белковых взаимодействий в рибосомах и их субчастицах у эукариот, в частности человека.

Рассматриваемая диссертационная работа представляет собой комплексное и систематическое исследование структурной организации и функциональных свойств рибосомных белков человека, а также их роли в различных клеточных процессах. Для этого автором налажено получение многих рекомбинантных рибосомных белков, их очистка и ренатурация. Установлен ряд характерных особенностей взаимодействия рекомбинантных рибосомных белков с РНК-транскриптами, соответствующими различным участкам 18S и 28S рРНК. В частности, автором определены рибосомные белки, образующие сердцевину 40S субчастиц рибосом человека, изучены особенности РНК-белковых взаимодействий при сборке и формировании структуры 60S субчастицы, выявлена роль гидроксилирования белка uL2 в формировании каталитического центра рибосомы. Впервые выполнена сборка крупного морфологического домена – «головы» 40S рибосомной

субчастицы из ее суммарных белков и РНК-транскрипта, соответствующего большому 3'-концевому домену 18S рРНК.

Здесь возникает вопрос: почему в представительном наборе полученных автором рекомбинантных белков рибосомы человека отсутствует белок eS6?

Изучение этого белка представляет особый интерес, т.к. при фосфорилировании eS6 в составе 40S субчастиц посредством специфической киназы (S6K) происходит преимущественная трансляция обширной группы 5'TOP-мРНК (от 5'-terminal oligopyrimidine), кодирующих все рибосомные белки, факторы элонгации, терминации, некоторые факторы инициации трансляции, поли(А)-связывающие белки, РНК-полимеразы, а также белки клеточного цикла и др. Т. о., при фосфорилировании eS6 активируются рибосомогенез, синтез всех компонентов белоксинтезирующего аппарата, что сопровождается бурным ростом и делением клеток. Известно, что в раковых клетках (в отличие от нормальных) белок eS6 всегда фосфорилирован, поэтому исследование механизмов контроля этого процесса имеет большой интерес для медицины. Надеюсь, что изучение рибосомного белка eS6 находится в планах лаборатории. Если так, то не сомневаюсь, что эта проблема будет исследована подробно и с высоким профессионализмом.

Далее автором проведено изучение структурных особенностей взаимодействия рибосомных белков человека с разными видами РНК и их роли в регуляции экспрессии собственных генов в процессах, не связанных непосредственно с трансляцией клеточных мРНК. Использование рекомбинантных рибосомных белков и РНК-транскриптов, соответствующих фрагментам их пре-мРНК, позволило А. А. Малыгину открыть новый способ регуляции экспрессии генов рибосомных белков человека на уровне сплайсинга, основанный на принципах молекулярной мимикрии и обратной связи.

Новые и достоверные данные получены диссертантом при детальном изучении взаимодействия структурных элементов 40S субчастицы со специфической IRES-последовательностью геномной РНК вируса гепатита С (ВГС). Показано, что в связывании IRES ВГС с 40S субчастицей участвуют не только рибосомные белки eS1, uS2, eS10, uS11, eS26 и eS27, но и комплементарное взаимодействие между триплетом CCC в апикальной части спирали h26 у 18S рРНК и триплетом GGG в субдомене IIId в IRES ВГС. Это взаимодействие способствует uS7-опосредованной перестройке 18S рРНК в области Р-сайта, где связывается инициаторная тРНК, что обеспечивает узнавание стартового кодона в IRES ВГС при отсутствие факторов инициации трансляции.

К замечаниям по оформлению автореферата можно отнести, например, опечатку, допущенную на первой же странице в конце первого абзаца в слове «жизнеспособность». Имеются также другие опечатки (стр. 4), однако они нисколько не снижают общее положительное впечатление от хорошо выполненной комплексной научной работы.

Судя по данным, приведенным в автореферате можно заключить, что автор искусно владеет большим арсеналом методов биохимии, биофизики, молекулярной биологии, включая различные виды электрофореза белков и нуклеиновых кислот, оптимально проводит химические и биохимические реакции, комплементарно-адресованной модификации молекул, владеет методами рекомбинантной технологии и компьютерного анализа.

Исследование, проведенное Малыгиным А. А., имеет фундаментальное значение для понимания принципов структурно-функциональной организации эукариотических рибосом, механизмов их функционирования и молекулярных основ взаимодействий, обеспечивающих регуляцию трансляции у высших организмов, а также, в перспективе, и прикладное значение.

В данной диссертации представлены результаты многих работ А.А. Малыгина, в которых впервые установлены структурные особенности взаимодействий рибосомных белков человека с разными видами РНК: в процессах сборки 40S и 60S субчастиц; в ходе инициации трансляции гРНК ВГС; в регуляции экспрессии генов рибосомных белков на уровне сплайсинга их пре-мРНК; а также показаны роль конкретных рибосомных белков в этих процессах.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Основные положения, результаты и выводы диссертационной работы опубликованы в 26 статьях – в российских и международных научных изданиях с высоким импакт фактором, а также докладывались на различных конференциях. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, включая все основные результаты, научные положения, выводы и заключение.

Разнообразие и адекватность методических подходов, получение рекомбинантных белков рибосом человека, изучение их взаимодействий с 18S рРНК, 28S рРНК, пре-мРНК, гРНК ВГС, а также тщательный анализ и осмысление полученных результатов, позволяют заключить, что в целом диссертационная работа Малыгина А. А. полностью соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора химических наук, а ее автор несомненно достоин присуждения искомой ученой степени доктора химических наук по специальности 03.01.04. – биохимия.

Главный научный сотрудник
лаборатории молекулярной биологии
РГП «Институт биологии и биотехнологии
растений» КН МОН РК, д.б.н., проф. Искаков Булат Кудайбергенович

Почтовый адрес: 050040, г. Алматы, ул. Тимирязева, д. 45, Казахстан
Телефон служебный: +7(727)293-05-07
Телефон мобильный: +7(771)754-03-64
Электронная почта: bulat.iskakov@mail.ru

Қолы куәландыру
№01-4/1. 2018 ж.