

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Очкасовой Анастасии Сергеевны на тему:
«Взаимодействие рибосомного белка uS3 человека с апурин-апиримидиновыми сайтами в ДНК и мРНК», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 - биоорганическая химия

Диссертационная работа Очкасовой Анастасии Сергеевны посвящена взаимодействию рибосомного белка uS3 с апурин-апиримидиновыми сайтами (АП-сайтами) в нуклеиновых кислотах. АП-сайты – это наиболее часто встречающиеся повреждения в нуклеиновых кислотах. Их накопление приводит к серьезным патологиям, в том числе к развитию нейродегенеративных заболеваний. Если репарация повреждений в ДНК довольно неплохо изучена, то про то, как осуществляется контроль качества мРНК в ходе трансляции, практически ничего не известно. Между тем, трансляции мРНК, содержащих АП-сайты, должна приводить к появлению ошибочных белков в клетке, и как следствие, к развитию заболеваний. Поэтому изучение молекулярных механизмов распознавания повреждений в ДНК и РНК является крайне актуальной задачей как с практической, так и фундаментальной точки зрения.

Основным объектом исследования диссертационной работы Очкасовой А.С. является эволюционно консервативный рибосомный белок uS3 человека. Располагаясь на поверхности малой субъединицы рибосомы, он формирует мРНК-связывающий канал, а также взаимодействует с факторами инициации трансляции. Однако, кроме рибосом-ассоциированных функций, белок uS3 обладает внерибосомными функциями, связанными с узнаванием поврежденной ДНК.

В своей диссертационной работе Анастасия Сергеевна всесторонне изучает взаимодействие белка uS3, как свободного, так и входящего в состав зрелых и незрелых 40S субчастиц с ДНК- и РНК-фрагментами, содержащими АП-сайты. В ходе работы ей удалось обнаружить два различных способа взаимодействия uS3 с ДНК-фрагментами, содержащими АП-сайт. В изолированном состоянии белок uS3 проявляет АП-лиазную активность и узнает АП-сайт аминокислотными остатками 155-192, расположенными в С-концевом домене, а в составе зрелых 40S субъединиц uS3 не обладает лиазной активностью и узнает АП-сайт аминокислотными остатками 55-64, расположенными в N-концевом домене.

Анастасия Сергеевна выдвинула и подтвердила гипотезу, о том, что в составе рибосомы белок uS3 может быть задействован в контроле качества мРНК в ходе трансляции. Она обнаружила, что белок uS3 ковалентно сшивается с АП-содержащей мРНК

в составе транслирующих 80S-субчастиц, что приводит к остановке рибосом и, вероятно, в дальнейшем к деградации мРНК по механизму «No-Go decay». Более того, было определено, что оптимальное для сшивки положение АП-сайта относительно Р-сайта соответствует +19 положению. С увеличением этого расстояния эффективность сшивки снижается. Обнаруженное Очкасовой А.С. явление вносит значительный вклад в понимание молекулярных механизмов распознавания поврежденной мРНК в ходе трансляции.

Работа Анастасии Сергеевны выполнена на высоком методическом уровне, в ней применяются современные биохимические и молекулярно-биологические методы. По теме диссертации опубликовано 5 статей в ведущих международных журналах, индексируемых международными базами цитирования WoS и Scopus. Результаты работы представлены на международных и российских конференциях. Достоверность полученных результатов и сделанных выводов не вызывает сомнений.

Существенных замечаний к автореферату диссертации нет. Однако при прочтении возникают некоторые вопросы, которым имело бы смысл уделить некоторое внимание. В частности, Анастасия Сергеевна показывает, что в составе ядерных пре-40S субчастиц белок uS3 не взаимодействует с АП-сайт-содержащими ДНК, и делает вывод, что с поврежденной ДНК в ядре взаимодействует свободный белок. Однако, рибосомные белки в эукариотической клетке крайне редко существуют в свободном состоянии. Котрансляционно они взаимодействуют с шаперонами (Yar1 в случае белка uS3), которые сопровождают рибосомные белки до их окончательной сборки в рибосому. Кроме того, не очень понятно в каких условиях белок uS3 может привлекаться к взаимодействию с геномной ДНК, т.к. он является преимущественно цитоплазматическим белком. Также на мой взгляд стоит с очень большой осторожностью относиться к данным ChIP-Seq, которые в качестве основных мест связывания указывают на геномные повторы, это один из часто встречающихся технических артефактов, который требует очень детальной и аккуратной проверки. Может быть стоило бы проводить эксперименты ChIP-Seq не в нормальных клетках, а при каких-то воздействиях, когда детектируемая доля белка uS3 располагается в клеточном ядре. Кроме того, не очень понятно, почему в экспериментах с ДНК-фрагментами для сшивки белка uS3 с АП-участками не требовалось фиксации мРНК, а в случае экспериментов с РНК-фрагментами мРНК должна быть зафиксирована в рибосоме взаимодействием с тРНК. Возможно это стоило бы обсудить в тексте. Несмотря на указанные замечания, они носят лишь уточняющий характер и никак не сказываются на положительном восприятии работы в целом.

Диссертационная работа Очкасовой Анастасии Сергеевны на тему «Взаимодействие рибосомного белка uS3 человека с апурин-апиримидиновыми сайтами в ДНК и мРНК», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой выяснены особенности взаимодействия рибосомного белка uS3 с АП-сайтами в нуклеиновых кислотах и предложен молекулярный механизм контроля качества мРНК в процессе трансляции. По актуальности, объёму выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов настоящая работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, в том числе отвечает требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а ее автор – Очкасова Анастасия Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 - биоорганическая химия.

Елисеева Ирина Александровна

Кандидат биологических наук
Старший научный сотрудник
Группа регуляции биосинтеза белка
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт белка Российской академии наук

142290, г. Пущино Московской области,
ул.Институтская 4
телефон: +7(4967) 31-84-27
E-mail: [yeliseeva@vega.protres.ru](mailto:yelisееva@vega.protres.ru)

11.04.2023



ПОДПИСЬ
УДОСТОВЕРЯЮ
ЗАВ. КАНЦЕЛЯРИЕЙ
ИБ РАН
АКСЕНОВА Г.Н.