

ОТЗЫВ

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

Диссертационная работа Очкасовой А.С. продолжает серию исследований лаборатории структуры и функции рибосом ИХБФМ СО РАН, проводимых прежде под руководством светлой памяти Галины Георгиевны Карповой, а ныне выполняемых её соратниками и учениками.

В данной работе исследованы как внерибосомные функции универсального рибосомного белка uS3, так и его функция в составе 40S рибосомной субчастицы человека. Внерибосомная функция uS3 состоит в распознавании апурин-апирииминовых (АП) сайтов в ДНК и внесении разрыва в рибозо-фосфатной цепи (АП-лиазная активность), после чего может произойти репарация повреждённого участка ДНК.

АП-лиазная активность внерибосомного uS3 была значительно большей в случае одноцепочечного субстрата (оц-АП⁺ДНК) чем двухцепочечного (дц-АП⁺ДНК). Эти и другие данные позволили автору считать, что наиболее адекватным субстратом для взаимодействия с uS3 в составе 40S субчастицы должна быть мРНК, тем более, что белок uS3, расположенный в нижней и внешней части «клюва» 40S, находится в непосредственной близости от мРНК, размещенной в соответствующем ей канале.

Однако, достаточно удивляющим оказался результат, что белок **uS3 в составе зрелых цитоплазматических 40S не проявляет АП-лиазной активности** в отношении оц-АП⁺ДНК и АП⁺РНК, хотя способен сшиваться с АП-сайтами одноцепочечных субстратов посредством сегмента аминокислотной последовательности 55-64. Следует отметить, что на рисунке 5 электронной версии автореферата в реакции, содержащей 1,5 μM 40S, на мой взгляд наблюдаются минорные количества продуктов расщепления оц-АП⁺ДНК и дц-АП⁺ДНК. Хотелось бы посмотреть на количество продуктов расщепления в реакции с 5 μM 40S, автограф которой не представлен.

Мой интерес к АП-лиазной активности белка uS3 в составе зрелых цитоплазматических 40S объясняется тем, что в составе рибосом (80S) кроме мРНК имеется ещё один весьма вероятный субстрат – сарцин-рициновая петля (sarcin/ricin loop, SRL) в 28S рРНК 60S субчастиц. Расщепление SRL в 28S рРНК лишает 60S способности взаимодействовать с факторами элонгации, что приводит к остановке синтеза белков и, в конечном счёте, к гибели клеток. Многочисленные рибосомо-инактивирующие белки (ribosome-inactivating proteins, RIPs), бактериального, грибного и растительного происхождения (рицин, абрин и др.), являются N-гликозидазами, депурицинирующими нуклеотид A4324 в SRL, создавая АП-сайт в 28S рРНК.

Теоретически АП-лиазная активность uS3 может приводить к образованию разрыва в SRL, так как на 3-х мерной модели 80S рибосом этот белок расположен недалеко от SRL и при определённой подвижности между субчастицами мог бы входить в контакт с SRL, внося разрыв, после чего 60S становится не способной осуществлять транслокацию и получать следующую аминоацил-тРНК.

В недавней работе [Olombrada e.a., 2020, doi: 10.1093/nar/gkaa315] показано, что риботоксин α -сарцин может расщеплять SRL в 25S рРНК в составе 60S дрожжей, тем самым блокируя трансляцию. Анализ полисом показал, что 60S с расщепленной SRL способны образовывать 80S-инициаторные комплексы, но затем элонгация трансляции рано прекращается. Это свидетельствует, что 80S-инициаторные комплексы, содержащие дефектную 60S субъединицу с нарушенной SRL, могут собираться на мРНК, но не могут

переходить в фазу элонгации трансляции, тем самым останавливая дальнейшее образование полисом. Таким образом, рибосомный белок uS3 в составе зрелых цитоплазматических 40S может контролировать не только структурную целостность мРНК, но и (предположительно) функциональную полноценность 60S субчастиц.

Следует добавить, что белок uS3 является универсальным для малых субчастиц рибосом про- и эукариотических клеток также, как и SRL-структура является универсальной для всех типов больших субчастиц. Представляется весьма интересным в дальнейшем исследовать наличие АП-лиазной активности у uS3 в составе малых субчастиц по отношению к SRL-структурам в больших субчастицах клеток про- и эукариот. Возможно, что АП-лиазная активность uS3 в составе рибосом никуда не исчезает, а специфично направлена на расщепление SRL-структур, повреждённых RIP-ами.

Судя по данным, приведенным в автореферате, можно заключить, что автор искусно владеет большим арсеналом методов биохимии, молекулярной биологии, геной инженерии, производительного секвенирования, биоинформатики.

Исследование, проведенное Очкасовой А.С., имеет фундаментальное значение для понимания внерибосомных и внутририбосомных функций белка uS3 рибосом человека, молекулярных основ механизма «No-Go Decay», контролирующего структурную целостность мРНК. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Основные результаты, положения и выводы работы опубликованы в международных научных журналах с высоким импакт фактором, а также докладывались на различных конференциях.

Разнообразие и адекватность методических подходов, а также большое количество и важность полученных результатов, позволяют заключить, что диссертационная работа Очкасовой Анастасии Сергеевны полностью соответствует требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении учёных степеней в ИХБФМ СО РАН, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета ИХБФМ.02.01 при Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а также на их обработку и хранение.

Главный научный сотрудник лаборатории
белка и нуклеиновых кислот в РГТ «Институт
молекулярной биологии и биохимии им. М.А.
Айтхожина» КН МНВО РК д.б.н. профессор



Искаков Булат Кудайбергенович
14 апреля 2023 года

Почтовый адрес: 050012, г. Алматы, ул. Досмухамедова, 86, Казахстан.
Телефон служебный: +7(727)293-05-07; мобильный: +7(771)754-03-64.
Электронная почта: bulat.iskakov@mail.ru Сайт института: <http://imbb.org.kz/>

Подпись	<i>Искакова Б.К.</i>
Заверяю Инспект. по кадрам	
Института молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина КН МНВО РК	
<i>Рыскулова</i>	<i>Искаков</i>
<i>«14» апреля 2023</i>	