

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу

Очкасовой Анастасии Сергеевны

«Взаимодействие рибосомного белка uS3 человека с апурин-апириимидиновыми сайтами в ДНК и мРНК», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Очкасовой А.С. посвящена изучению вне ribосомных функций рибосомного белка uS3 человека, а именно выяснению функциональной роли взаимодействия этого белка с апуриновыми/апириимидиновыми (АР) сайтами в ДНК и РНК. Белки семейства uS3 проявляют различные вне ribосомные функции, связанные в основном с их взаимодействием с ДНК, в частности, участвуют в регуляции транскрипции генов, находящихся под контролем транскрипционного фактора NF-κB, и могут быть вовлечены в репарацию повреждений ДНК за счет обнаруженной у них АР-лиазной активности. Однако какой участок в uS3 отвечает за АР-лиазную активность и имеет ли эта активность реальное отношение к репарации ДНК в клетке, было не известно. Кроме того, оставалась неисследованной способность uS3 в составе 40S субчастиц взаимодействовать с АР-сайтами в мРНК, в результате чего белок может принимать участие в контроле качества мРНК в процессе трансляции.

В диссертационной работе Очкасовой А.С. проведено детальное исследование АР-лиазной активности рибосомного белка uS3 человека в свободном состоянии, а также в составе зрелых цитоплазматических 40S субчастиц рибосом или ядерных пре-40S частиц, с целью установления его функций, связанных с взаимодействием белка с АР-сайтами в ДНК и мРНК. Представленная работа имеет отношение к установлению молекулярных механизмов функционирования систем, обеспечивающих стабильность генома, – репарации повреждений ДНК и контроля качества мРНК, нарушения в которых приводят к развитию серьезных патологий, что определяет фундаментальное значение и актуальность выполненного исследования.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Очкасовой А.С. состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 123 страницах, включает 36 рисунков, 3 таблицы и список цитируемой литературы, включающий 281 источник.

Во вводной части автор обосновывает актуальность темы исследования, определяет нерешенные вопросы на момент начала работы, формулирует цель и задачи своей работы,

новизну и значимость полученных результатов, выносимые на защиту положения, а также приводит сведения о презентации результатов на международных и российских конференциях и о личном вкладе автора в исследование.

Обзор литературы, озаглавленный «Участие рибосомных белков эукариот в процессах контроля качества нуклеиновых кислот в клетке», непосредственно связан с содержанием экспериментальной части работы и полученными результатами. В обзоре обсуждаются известные в настоящее время данные об участии рибосомных белков эукариот в процессах, не связанных с трансляцией, в первую очередь в ответе клетки на повреждение ДНК и РНК. Рассмотрены основные виды повреждений, возникающих в ДНК и РНК под действием генотоксических факторов, и пути их исправления. Описаны механизмы репарации ДНК и контроля качества РНК с акцентом на обсуждение данных об участии в этих процессах рибосомных белков. В заключении к обзору литературы автор обосновывает выбор темы исследования и определяет цель своей работы.

Работа выполнена на высоком экспериментальном уровне с применением методов биоорганической химии, биохимии и биоинформатики, которые достаточно подробно описаны в соответствующей главе диссертации. Широкий набор и разнообразие использованных в работе методов и подходов позволили автору получить значимые и интересные результаты.

Результаты работы и их обсуждение представлены в соответствии с логикой исследования. На начальном этапе работы была проведена проверка способности рибосомного белка uS3 человека в составе субчастицы 40S образовывать сшивки с AP-сайтом в ДНК, как это было показано ранее для изолированного белка. Проведен сравнительный анализ AP-лиазной активности белка в свободном состоянии и в составе субчастиц 40S по отношению к AP-сайту в двуцепочечной и одноцепочечной ДНК. Определены участки белка, участвующие в образовании сшивок с ДНК, а также в формировании AP-лиазного активного центра. Проведенные исследования продемонстрировали различие во взаимодействии с AP-сайтами белка в составе рибосомы и свободного uS3. Следует отметить, что автором проведен широкий спектр исследований по установлению функциональной роли обнаруженной у белка uS3 AP-лиазной активности, в том числе была проведена идентификация участков связывания этого белка на геномной ДНК человека с использованием метода ChIP-Seq на клетках HEK293.

Несмотря на то, что большая часть работы посвящена подробному анализу взаимодействия исследуемого белка с ДНК, наиболее яркие и биологически значимые результаты получены в работе по изучению взаимодействия uS3 с мРНК. В работе

впервые показана способность белка uS3, находящегося на внешней поверхности субчастицы 40S вблизи участка входа мРНК в рибосомный канал, сшиваться с AP-сайтом в мРНК. Примечательно, что такая сшивка происходит в процессе трансляции AP-сайт-содержащей мРНК, в результате чего образуется трансляционный комплекс с ковалентно фиксированной на рибосоме мРНК. Полученный результат может свидетельствовать о существовании неизвестного ранее молекулярного механизма контроля качества мРНК, основанного на ковалентном сшивании мРНК с белком uS3 в составе субчастицы 40S. Такие комплексы с «застывшей» на рибосоме мРНК могут подвергаться разборке по пути No-Go Decay с последующей деградацией поврежденных мРНК и «недосинтезированных» пептидов.

В заключении автор суммирует полученные результаты, обозначает их научную значимость и возможности дальнейшего использования, а также направления развития исследований.

Достоверность и обоснованность результатов

Достоверность представленных в диссертации результатов не вызывает сомнений. Выводы обоснованы и полностью вытекают из представленных данных. Автореферат диссертации отражает основные результаты исследования и соответствует содержанию диссертации. Основные результаты работы опубликованы в авторитетных международных изданиях, в том числе в высокорейтинговом журнале *Nucleic Acids Research*, а также представлены на нескольких международных и всероссийских конференциях. Работа выполнена в Лаборатории структуры и функции рибосом ИХБФМ СО РАН – единственном в России коллективе, занимающимся систематическим изучением рибосом человека. Представленная диссертация подтверждает высокий уровень работ, проводимых в этой лаборатории.

Замечания

Принципиальных замечаний по содержанию работы нет. Для более полного понимания возможного вклада белка uS3 в репарацию AP-сайтов в ДНК можно было провести сравнительный анализ AP-лиазной активности этого белка и других белков, участвующих в репарации, например, OGG1. Можно высказать некоторые замечания по представлению результатов. Глава «Результаты и их обсуждение» разделена на 12 частей в соответствии с выполненными исследованиями. На мой взгляд, более информативным и удобным для восприятия было бы деление на две подглавы, представляющие данные по взаимодействию белка с AP-сайтами в ДНК и РНК соответственно. Хотя текст

диссертации написан весьма грамотно, некоторые опечатки все-таки присутствуют. Так, в оглавлении АР-сайт написан без дефиса. Сделанные замечания носят дискуссионный либо технический характер и нисколько не умаляют ценность выполненного исследования и качество полученных результатов.

Заключение

В заключение следует подчеркнуть высокий научный уровень работы, объем и качество полученных результатов, а также уровень публикаций и представления результатов на международных и российских научных мероприятиях.

Диссертационная работа Очкасовой А.С. представляет законченное научное исследование, которое вносит существенный вклад в установление механизмов контроля качества нуклеиновых кислот с участием рибосомных белков, и полностью соответствует требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.4.9 – биоорганическая химия. Диссертационная работа оформлена в соответствии с Приложениями 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Автор работы, Очкасова Анастасия Сергеевна, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Ведущий научный сотрудник ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, доктор химических наук



Речкунова Надежда Ивановна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН Адрес: 630090, Новосибирск, проспект академика Лаврентьева, 8

Телефон: +7 (383) 363-51-56

Факс: +7 (383) 363-51-53

Эл. адрес: nadyarec@niboch.nsc.su

Подпись Речкуновой Н.И. заверяю.

Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН
К.б.н.

«07» апреля 2023 г.

М.П.



Логашенко Евгения Борисовна