

Иск. № 23.10.2024 № 12312-13/425-1

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

"Институт молекулярной биологии

им. В.А. Энгельгардта"

Российской академии наук

С.Г. Георгиева



«23» октября 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Трубициной Нины Павловны
«Изучение механизмов влияния нонсенс-мутаций в гене *SUP35* на свойства
приона [*PSI*⁺] у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*», представленной к защите на
соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. –
генетика

Актуальность темы исследования

Диссертация Н.П. Трубициной посвящена исследованию влияния нонсенс-мутаций в гене терминации трансляции *SUP35* на свойства приона [*PSI*⁺] у дрожжей. Нонсенс-мутации гена *SUP35*, то есть появление преждевременных стоп кодонов в последовательности гена, вызывают синтез укороченного фактора терминации трансляции eRF3, не способного участвовать в завершении синтеза белка. Кроме того, белок eRF3 *Saccharomyces cerevisiae* способен образовывать амилоиды, что также подавляет терминацию трансляции. Было высказано предположение, что некоторые мутации в гене *SUP35* могут регулировать его способность к прионизации. Хотя имеется большое количество статей, исследующих особенности функционирования фактора eRF3 и его прионизации, механизмы регуляции его активности остаются малоизученными. Таким образом, тема данной

работы крайне актуальна для исследования фундаментальных механизмов терминации трансляции и образования амилоидов.

Кроме того, известно, что около 30% генетических заболеваний вызваны появлением преждевременных стоп кодонов в кодирующих последовательностях. Таким образом, исследование механизма супрессии терминации трансляции у эукариот актуально также с практической точки зрения и полученные данные могут быть использованы в разработке стратегий терапии наследственных заболеваний.

Научная и практическая значимость работы

Первая часть работы посвящена исследованию свойств четырех мутантных белков, образующихся в результате появления спонтанных нонсенс-мутаций в гене *SUP35*, кодирующем фактор терминации трансляции eRF3. В ходе работы оценивались наличие укороченных белков в клетках дрожжей, а также стабильность этих белков. Кроме того, проведено подробное исследование влияния данных нонсенс-мутаций на рост и выживаемость клеток. Во второй части работы проведено детальное исследование влияния данных мутаций на выживаемость клеток с $[PSI^+]$ фенотипом и образование амилоидных фибрилл. Обнаружено, что мутации *sup35-21*, *sup35-74* и *sup35-218* полностью летальны для гаплоидных клеток с этим фенотипом, а также нарушают структуру прионов. Напротив, мутация *sup35-240* не летальна в гаплоидных клетках, однако вызывает потерю $[PSI^+]$ фенотипа. Таким образом, автором проведено глубокое исследование механизмов адаптации клеток дрожжей к нарушениям терминации трансляции, которое позволяет существенно расширить наше понимание фундаментальных процессов, происходящих в клетках эукариот в ходе биосинтеза белка.

Структура и содержание диссертации

Диссертация написана в соответствии с требованиями к оформлению диссертационных работ и включает разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Выводы», «Список литературы», «Благодарности». Диссертационная работа изложена на 116 страницах, содержит 25 рисунков и 5 таблиц. Во «Введении» автор формулирует

цели и задачи работы, обосновывает ее актуальность, научную и практическую значимость, формулирует положения, выносимые на защиту, кратко описывает методологию исследования, личный вклад соискателя, степень достоверности и апробацию результатов.

В «Обзоре литературы» последовательно излагаются современные данные, касающиеся терминации трансляции дрожжей. Также подробно рассмотрена тема прионизации у дрожжей. Обзор литературы дает полное представление о современном состоянии исследований по теме диссертации и обеспечивает теоретическую подготовку, необходимую для понимания полученных в работе новых результатов.

Глава «Материалы и методы» содержит 8 подразделов и соответствует поставленным экспериментальным и теоретическим задачам.

В главе «Результаты» описаны решения экспериментальных задач, поставленных в ходе работы. Необходимо отметить высокое экспериментальное мастерство, проявленное автором при выполнении диссертационной работы. В работе применялись современные методы, требующие исключительного профессионализма в постановке экспериментов, среди которых классические генетические методы работы с дрожжами, а также целый арсенал классических молекулярно-биологических методов.

В главе «Обсуждение результатов» проведен анализ полученных данных, в ходе которого автору удалось показать, что появление нонсенс-мутаций в факторе терминации eRF3 изменяют свойства приона [*PSI*⁺].

Несмотря на несомненную научную ценность полученных результатов диссертационной работы, к оформлению работы имеется ряд замечаний и вопросов:

1. В обзоре литературы автор утверждает, что взаимодействие факторов терминации eRF1 и eRF3 происходит исключительно в присутствии ГТФ, что не верно. Эти белки могут взаимодействовать друг с другом как в ГТФ, так и в ГДФ формах, и даже в отсутствие нуклеотида.

2. В обзоре литературы при описании механизма терминации трансляции утверждается, что доставка фактора терминации eRF1 в рибосому всегда осуществляется белком транспорта мРНК из ядерной поры Dbp5 / DDX19. Однако, eRF1 также может связываться с рибосомой и в отсутствие этих белков. Вероятно, Dbp5 осуществляет доставку eRF1 только в особых случаях, например, при первом раунде трансляции новосинтезированных мРНК, вышедших из ядерной поры.

3. В тексте диссертации использована не очень удобная система ссылок на литературные источники: ссылки пронумерованы, но расположены в списке литературы не по порядку номеров, а по алфавиту. В результате первая ссылка, которая встречается в тексте, имеет номер 191, а следующая 78. Для упрощения поиска нужных ссылок целесообразно было бы либо использовать нумерацию и дать список литературы в порядке упоминания, либо использовать алфавитный порядок ссылок в списке литературы без нумерации.

4. Автор продублировал цель и задачи работы во введении и после раздела Обзор литературы.

5. Интересный результат получен при замене глутамин в позиции 56 на лизин – повышается стабильность белка sup35. Как автор может объяснить появление такого свойства исходя из ближайшей аминокислотной последовательности? Может ли появление положительно-заряженного аминокислотного остатка как-то стабилизировать структуру данного белка? Интересно было бы определить влияние этой мутации на активность данного белка в терминации трансляции или сквозном чтении стоп кодонов.

Хочу тем не менее отметить, что указанные вопросы и замечания не снижают достоверности и научной значимости диссертационной работы.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование проведено на современном экспериментальном уровне. Полученные результаты обоснованы и статистически достоверны. Выводы диссертации сформулированы в соответствии с поставленными задачами и

полученными результатами. Результаты диссертационной работы Трубициной Н.П. опубликованы в 3 статьях в рецензируемых журналах.

Заключение

В целом, в диссертационной работе получены уникальные важные для понимания функционирования факторов терминации трансляции результаты, а указанные замечания не снижают значимости диссертационного исследования. По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Н.П. Трубициной «Изучение механизмов влияния нонсенс-мутаций в гене *SUP35* на свойства приона [*PSI*⁺] у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*» полностью соответствует п.п. 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г., (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлениями Правительства РФ от 21.04.2016 №335, ред. От 01.10.2018 №1168, ред. От 20.03.2021), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Нина Павловна Трубицина заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 «Генетика».

Отзыв утвержден на межлабораторном семинаре Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта" Российской академии наук 3 октября 2024 года.

Отзыв составила:

Заведующая лабораторией
механизмов и контроля трансляции,
ведущий научный сотрудник,
кандидат биологических наук

Электронная почта: alkalaeva@eimb.ru

 Алкалаева Е.З.

«23» октября 2024 г.



Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

Почтовый адрес: ГСП-1, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН

Тел.: +7(499) 135-23-11, +7(499)135-11-60

Адрес официального сайта: <https://www.eimb.ru/>

Электронная почта: isinfo@eimb.ru