

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
ИНСТИТУТА БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА
И Ю.А. ОВЧИННИКОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИБХ РАН) ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 17 июня 2015 г. № 8

О присуждении **Переверзеву Антону Петровичу**, гражданину РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Методы анализа процессинга и деградации мРНК с помощью флуоресцентных белков» по специальности 03.01.03 - молекулярная биология принята к защите 18.03.2015 г., протокол №3, диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (адрес: Российская Федерация, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; Приказ Минобрнауки России от 15 февраля 2013 г. №75/нк).

Соискатель Переверзев Антон Петрович 1990 года рождения. В 2012 году соискатель с отличием окончил Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности «биохимия». С 2012 г. по настоящее время обучается в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории биофотоники Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель - доктор биологических наук Лукьянов Константин Анатольевич, заведующий лабораторией биофотоники Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Шидловский Юлий Валерьевич, доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН), заведующий лабораторией регуляции экспрессии генов в развитии ИБГ РАН,

Гельфанд Михаил Сергеевич, доктор биологических наук, заместитель директора по научным вопросам Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН) в своём положительном заключении, подписанном д.б.н. Крамеровым Д.А., руководителем лаборатории эволюции геномов эукариот ИМБ РАН, указала, что диссертационная работа Переверзева Антон Петровича соответствует требованиям "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), а ее автор, Переверзев Антон Петрович, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология».

Соискатель имеет 3 опубликованных работы по теме диссертации объемом 2 печ. листа, в том числе 1 статью, опубликованную в отечественном научном издании, включённом в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК, и 2 статьи, опубликованные в зарубежных научных изданиях, включённых в библиографическую базу Web of Science. Научные работы по теме диссертации, в которые автор внёс основной или существенный вклад:

1. **Anton P. Pereverzev**, Nadya G. Gurskaya, Galina V. Ermakova, Elena I. Kudryavtseva, Nadezhda M. Markina, Alexey A. Kotlobay, Sergey A. Lukyanov, Andrey G. Zarskiy, Konstantin A. Lukyanov. Method for quantitative analysis of nonsense-mediated mRNA decay at the single cell level. *Sci. Rep.* 2015; 5: 7729.
2. Nadya G. Gurskaya, Dmitry B. Staroverov, Lijuan Zhang, Arkady F. Fradkov, Nadezhda M. Markina, **Anton P. Pereverzev**, Konstantin A. Lukyanov. Analysis of alternative splicing of cassette exons at single-cell level using two fluorescent proteins. *Nucleic Acids Res.* 2012 Apr; 40(8): e57.
3. **А. П. Переверзев**, Н. М. Маркина, Ю. Г. Янушевич, Т. В. Городничева, Б. Э. Минасян, К. А. Лукьянов, Н. Г. Гурская. Усиление экспрессии химерных генов включением в их 3'-нетранслируемую область интрона 2 гена бета-глобина человека. *Биоорганическая химия*, 2014, том 40, № 3, с. 293–296.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента д.б.н. Шидловского Юлия Валерьевича. Отзыв положительный. Содержит следующие замечания: 1) Более 90% использованных в работе статей опубликованы до 2010 года, тогда как по тематике NMD количество публикаций растёт каждый год. Автору необходимо было более тщательно осветить последние открытия в указанной области. 2) Литературный обзор следовало бы расширить, чтобы он

по объему был сравним с экспериментальной частью диссертации. 3) Недочеты в оформлении: названия генов необходимо указывать наклонным шрифтом, последовательности нуклеотидов – заглавными буквами. Не совсем удачным является соседство англоязычных и русскоязычных аббревиатур: так, часто в одном предложении встречаются ПСК и NMD. 4) Не проведена оценка статистической достоверности различий активности NMD, измеренных для различных образцов (в разных клеточных линиях или при воздействии ингибиторов). 5) Желательно было бы включить в анализ большее число клеточных линий с помощью разработанного репортера.

Отзыв официального оппонента д.б.н. Гельфанда Михаила Сергеевича. Отзыв положительный. Оппонент не высказал замечаний к работе.

Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный. Содержит следующие замечания: 1) Зачастую аббревиатуры расшифрованы несвоевременно: EJC расшифрован только при третьем упоминании (литобзор), NMD – со второго упоминания (литобзор), RUST – со второго раза, через 18 страниц после первого упоминания и только по-русски. В списке сокращений (в конце диссертации) и нигде в тексте не расшифрованы по-английски английские аббревиатуры, а даны только русские вольные переводы. 2) В разделе «Результаты» обсуждение начинается с рис. 3.2, а не с рис. 3.1, причем рис. 3.2 расположен через несколько страниц после ссылки на него. Это мешает восприятию материала. 3) Встречаются стилистические недочеты, не украшающие диссертацию.

В ходе процедуры защиты диссертации соискатель в полной мере ответил на все замечания оппонентов и ведущей организации. Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их достижениями в области молекулярной и клеточной биологии, регуляции экспрессии генов у высших эукариот, изучения альтернативного сплайсинга и функциональной аннотации генов, а также наличием большого количества публикаций в высокоцитируемых российских и зарубежных журналах по теме диссертации соискателя. Их высокая квалификация позволяет объективно оценить научную и практическую ценность настоящей диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований была показана возможность использования пары флуоресцентных белков TagGFP2 и Katushka для создания генетических репортерных конструкций для количественной оценки альтернативного сплайсинга на уровне мРНК с помощью репортерных минигенов, в которых последовательности, кодирующие флуоресцентные белки, функционально соединены с фрагментами эукариотических генов. Включение в анализ второго флуоресцентного белка и использование контрольной конструкции для

установления базового уровня соотношения интенсивностей флуоресценции в двух каналах позволяло количественно оценить активность процесса на уровне отдельных клеток. Авторы применили схожий принцип для конструирования репортерных конструкций для измерения активности процесса нонсенс-зависимой деградации мРНК (NMD) на уровне отдельных клеток. Сконструированы репортерные и контрольные плазмиды для оценки активности зависимого от сплайсинга NMD и независимого от сплайсинга NMD в клетках млекопитающих *in vivo*. В отличие от разработанного метода предыдущие флуоресцентные и люминесцентные репортеры активности NMD не позволяли количественно оценивать активность процесса на уровне отдельных клеток.

Данная работа имеет высокую практическую ценность, поскольку полученные инструменты могут быть использованы для исследований в различных областях науки.

Помимо практического значения, диссертация представляет фундаментальный интерес. Автором было впервые обнаружена отчетливая гетерогенность активности NMD в культивируемых до высокой плотности клетках HEK293T. Потенциальным объяснением наблюдаемого феномена является повышение уровня кальция при контактном ингибировании роста клеток. Разработанный метод может быть особенно полезен в случае сложных биологических моделей, например, при исследовании регуляции процесса NMD в ходе развития. На примере трансгенных эмбрионов *Xenopus* показана возможность применения разработанного репортера зависимого от сплайсинга NMD для отслеживания активности NMD в динамике в ходе эмбрионального развития. Так как механизм распознавания преждевременного стоп-кодона одинаков для всех эукариот, полученные репортерные конструкции можно использовать для различных биологических моделей.

Работа выполнена на хорошем экспериментальном уровне с применением различных современных молекулярно-биологических методик. В процессе работы автором собран большой объем экспериментального материала. Достоверность полученных данных проверена с помощью значительного количества контрольных подтверждающих экспериментов. Показана воспроизводимость полученных результатов. Сделанные автором выводы аргументированы.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выборе направления исследований, разработке и выборе экспериментальных подходов, обработке и анализе полученных экспериментальных данных. Основные экспериментальные данные получены соискателем лично за исключением исследований на эмбрионах *Xenopus*, выполненных в лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза ИБХ РАН (Москва). Подготовка основных публикаций по выполненной работе проведена при непосредственном участии автора.

На заседании 17 июня 2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Переверзеву А.П. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человека, из них 6 докторов наук по профилю диссертации (специальность 03.01.03 - молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовал: за - 23, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель
диссертационного совета



академик РАН Иванов В.Т.

Учёный секретарь
диссертационного совета

д. физ.-мат.н. Олейников В.А.