

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор — начальник
Управления научной политики
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Московский государственный
университет имени М.В.



Ломоносова»

Федянин Андрей Анатольевич

«10» июня 2022 г.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Паршиной Елены Анатольевны на тему
**«Роль зиксина, белка фокальной адгезии, в регуляции уровня транскриптов генов-
маркеров стволовых клеток»**, представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

Работа посвящена определению роли цитоскелетного белка Zyxin в регуляции процессов клеточной дифференцировки в эмбриональном развитии шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*).

Актуальность темы исследования

Известно, что основными процессами, обеспечивающими эмбриональное развитие являются дифференцировка клеток и морфогенез. Несомненный интерес вызывает изучение механизмов, обеспечивающих координацию этих процессов. В связи с этим, актуальной задачей молекулярной биологии и биологии развития является поиск белков, способных, с одной стороны, регулировать морфогенетические движения клеток, а с другой – влиять на дифференцировку эмбриональных клеток.

В последнее время появляется все больше данных о том, что подобную координирующую функцию могут выполнять LIM-доменные белки, в частности белок Zuxin. Zuxin локализован преимущественно в клеточных контактах, где он участвует в сборке актиновых филаментов, т.е. непосредственно обеспечивает способность клеток к прикреплению и движению, что, в свою очередь, является необходимой базой для морфогенетических движений. При определенных условиях, например, при механическом воздействии на клетки, Zuxin транспортируется в ядро, где влияет на экспрессию генов посредством взаимодействия с транскрипционными факторами и/или их белковыми партнерами. Учитывая, что в индивидуальном развитии механические натяжения закономерно возникают в тканях эмбриона в результате морфогенетических движений, Zuxin способен осуществлять корректировку работы транскрипционного аппарата клеток того или иного эмбрионального зачатка в зависимости от текущего морфогенетического статуса этих клеток. Поэтому было особенно интересно изучить возможные функции Zuxin в регуляции экспрессии генов во время эмбриогенеза, когда связь морфогенетических движений с экспрессией генов чрезвычайно важна.

Научная новизна исследования

В работе впервые продемонстрирована способность цитоскелетного белка Zuxin регулировать уровни мРНК генов плюрипотентности у эмбрионов *Xenopus laevis*, в человеческих клетках линии HEK293 и эмбрионах *Danio rerio*. Был установлен механизм этой регуляции: Zuxin уменьшает концентрацию мРНК генов семейства *pou5f3* за счет образования комплекса с мРНК-связывающим белком Ybx1, который, находясь вне этого комплекса, стабилизирует мРНК *pou5f3*.

Помимо значительного повышения уровней мРНК *pou5f3*, нокаун *zuxin* у эмбрионов *Xenopus* вызывал меньшее, но статистически значимое увеличение концентраций мРНК трех других генов, связанных с плюрипотентным статусом эмбриональных стволовых клеток, а именно *klf4*, *vent2.1* и *vent2.2*. Полученные в этой работе данные о влиянии Pou5f3.3 на экспрессию *klf4*, *klf5*, *vent2.2* и *vent2.1* у *Xenopus laevis* являются дополнением к имеющимся в литературе данным о влиянии факторов POU5 на экспрессию гомологов этих генов у других организмов.

Данные, полученные в настоящей работе, указывают на то, что Zuxin может играть роль общего регулятора плюрипотентности в эмбриональных клетках, который подавляет активность генов плюрипотентности, таких как *pou5f3*, *POU5F1*, *Klf4*, *NANOG*.

Значимость результатов для науки и практики

Полученные данные представляют значительный интерес в связи с тем, что Zuxin известен как белок-регулятор сборки актиновых микрофиламентов и формирования клеточных контактов, что, в свою очередь, является необходимой базой для морфогенетических движений клеток в эмбриогенезе. Таким образом, выявленная в настоящей работе способность Zuxin регулировать уровни мРНК генов плюрипотентности указывает на возможный механизм связи морфогенетических движений клеток посредством Zuxin с их дифференцировкой.

Кроме того, нарушение функционирования Zuxin приводит к развитию широкого спектра злокачественных новообразований. Поэтому исследование его роли в регуляции дифференцировки клеток может иметь большое значение для биомедицины.

Достоверность полученных результатов

Данные получены автором с использованием современных подходов и методов исследований, таких как ОТ-ПЦР, *in situ* гибридизация, генно-инженерные методы, исследование активности люциферазных репортеров, РНК- и ко-иммунопреципитация, и свидетельствуют об успешном решении поставленных задач. Выводы вытекают из представленных данных и полностью отражают результаты проведенных исследований.

Оформление и содержание работы

Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из стандартных глав: введение, обзор литературных данных, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, список сокращений, список литературы. Работа иллюстрирована 37 рисунками и 5 таблицами. Список литературы содержит 144 цитированных источника.

Во введении кратко сформулировано значение и актуальность работы.

Обзор литературных данных написан хорошим, понятным языком и разделен на три части. Первая часть включает в себя данные о цитоскелетном белке Zuxin, его строении, партнёрах и функциях в нормальном развитии и при патологии. Во второй части литературного обзора автор знакомит нас с семейством белков Pou5 и описывает эволюцию этих белков и роль в дифференцировке клеток различных организмов. Третья

часть литературного обзора посвящена описанию многофункционального белка Ybx, его структуре и взаимодействиям с другими молекулами. Изложенные в литературном обзоре данные позволяют более полно интерпретировать полученные в работе результаты.

В экспериментальной части (в главе «Материалы и методы») приводится подробная характеристика используемых реактивов, реагентов и лабораторных животных. Подробно охарактеризованы объекты исследования, описаны методы клонирования, блокирования эндогенной мРНК *zuxin* путем микроинъекций анти-смысловых олигонуклеотидов, гибридизации *in situ*, а также другие методы и приемы, использованные в работе.

В главе «Результаты» изложены собственные данные автора, о которых уже шла речь выше. Полученные результаты подробно иллюстрированы схемами, таблицами и фотографиями, которые дают точное представление о ходе выполнения экспериментов, отражают высокий методический и профессиональный уровень работы.

В главе «Обсуждения» автор анализирует полученные результаты. На основании полученных данных Паршиной Е.А. вводится модель регуляции стабильности мРНК генов плюрипотентности с помощью *Zuxin*.

Выводы, сделанные автором, убедительны и не вызывают сомнений.

Автореферат диссертации полностью отражает содержание работы.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Результаты, полученные в работе, являются базой для дальнейших исследований молекулярных механизмов взаимной регуляции процессов морфогенеза, а также канцерогенеза, в которых *Zuxin* принимает участие как белок межклеточных контактов, и дифференцировкой тканей, которая напрямую регулируется генами плюрипотентности семейства *Pou5f3*. Полученные автором данные имеют большую научную ценность и могут быть включены в учебно-методические пособия для школьников и студентов.

Замечания по диссертации

Принципиальных замечаний по диссертации Е.А. Паршиной нет. Приведен список сокращений, с расшифровкой всех использованных в тексте аббревиатур, что облегчает восприятие материала. Вместе с тем, могут быть высказаны некоторые замечания по

рецензируемой работе, касающиеся немногочисленных опечаток, стиля изложения, в частности использования англицизмов, что, тем не менее, не снижает общее положительное впечатление о работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании всего изложенного выше, можно сделать вывод, что диссертационная работа Паршиной Елены Анатольевны на тему **«Роль зиксина, белка фокальной адгезии, в регуляции уровня транскриптов генов-маркеров стволовых клеток»** является законченной научно-квалификационной работой, содержащей ряд интересных результатов, которые вносят значимый вклад в решение такой важной задачи молекулярной биологии развития, как поиск и исследование молекулярно-генетических механизмов координации дифференцировки клеток с их морфогенетическими движениями в эмбриогенезе позвоночных животных.

Диссертационная работа Паршиной Елены Анатольевны соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. №1539), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

Отзыв утвержден на заседании кафедры эмбриологии биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова (Протокол № 8, «3» июня 2022 г.).

Заведующий кафедрой эмбриологии,

доктор биологических наук,

член-корреспондент РАН

«3» июня 2022 г.

А.В. Васильев

ФГБУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Адрес: 119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1

Телефон: +7 (495) 939-10-00

E-mail: info@rector.msu.ru