

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**о диссертационной работе Антона Петровича Переверзева
«Методы анализа процессинга и деградации мРНК с помощью
флуоресцентных белков», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук в диссертационный совет
Д002.019.01 при Институте биоорганической химии им. академиков
М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН по специальности 03.01.03 –
молекулярная биология**

Нонсенс-зависимая деградация мРНК (NMD) – важный и относительно слабоизученный молекулярно-генетический процесс. Данные последних исследований показывают, что значительная доля событий сплайсинга в клетке происходят с ошибками, и то, что мы принимаем за альтернативный сплайсинг, особенно у высокоэкспрессируемых генов, может не иметь функционального смысла. Понимание уровня этих ошибок и его зависимости от состояния клетки является актуальной задачей. С другой стороны, NMD многих генов имеет регуляторный смысл. Из сказанного ясна необходимость в инструменте для экспериментальной работы с NMD, и в диссертации А.П.Переверзева такой инструмент предложен.

Диссертация написана по традиционному плану. В первой главе содержится хороший обзор текущего состояния проблемы, который вполне заслуживает публикации, скажем, в «Молекулярной биологии» (в сторону отмечу, что публикация актуальных обзоров вполне может быть хорошей стратегией выживания русскоязычных научных журналов). Во второй главе полно описаны экспериментальные методы. В третьей изложены результаты.

Автором создана генетическая конструкция из двух генов, кодирующих флуоресцентные белки, таким образом, что один из них отслеживает уровень экспрессии гена, а другой – соотношение изоформ. Уже первые опыты показали нетривиальный результат – гетерогенность клеток по уровню альтернативного сплайсинга и, уже при более детальном анализе, NMD. Впрочем, в свете последних работ, в которых такая гетерогенность показана для самых разных процессов, начиная от уровней

транскрипции, это не является совсем уж неожиданным. Зато поучительно было бы в будущем провести секвенирование единичных клеток и попробовать понять, уровень экспрессии каких генов систематически влияет на соотношение изоформ. Аналогичный подход был использован для создания конструкции, позволяющей оценивать уровень NMD. При этом автором была успешно решена тонкая задача – разделить влияние альтернативного сплайсинга и NMD: это сложно, поскольку оба процесса влияют на соотношение изоформ. Это было сделано в разделе 3.2.3. Автором не просто предложены новые конструкции, но проведено их сравнение с более простыми вариантами и показано, что получаемые результаты более адекватны, чем при альтернативных подходах.


Разработанные конструкции позволили сделать важные наблюдения. В частности, впервые была показана гетерогенность клеток по уровню NMD, причем оказалось, что эта гетерогенность связана с плотностью клеток либо через стресс, либо через уровень внутриклеточного кальция. Исследование этого вопроса может стать интересным продолжением работы. Еще одним интересным продолжением может быть исследование механизмов увеличения активности NMD в эмбрионах шпорцевой лягушки: сделанные автором наблюдения противоречат литературным данным о подавлении NMD за счет микроРНК miR-128. Следует отметить, что неинвазивный характер процедуры позволяет изучать работу NMD в динамике, что особенно важно для генетики развития.

У меня нет сколько-нибудь серьезных замечаний к представленной работе. Отдельно хочу отметить очень хорошее литературное качество работы – она написана достаточно легким и понятным языком при минимальном количестве ошибок и опечаток.

Судя по диссертации, автореферату и работам, опубликованным в ведущих международных журналах, диссертационная работа А.П.Переверзева «Методы анализа процессинга и деградации мРНК с помощью флуоресцентных белков» является законченным научно-квалификационным исследованием, имеющим существенное научное и практическое значение для молекулярной биологии. Тема диссертации актуальна, результаты имеют существенную новизну, основные выводы достоверны. По совокупности полученных результатов работа

А.П.Переверзева соответствует п. 9 Положения о присуждении ученых степеней № 842 от 24 сентября 2013 года. Автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Заместитель директора по научным вопросам
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича
Российской академии наук,
доктор биологических наук, профессор



Михаил Сергеевич Гельфанд

127994, Москва, ГСП-4,
Большой Каретный переулок, дом 19, строение 1
Тел.: +7-(495)-650-42-25, +7-(916)-609-29-71
E-mail: gelfand@iitp.ru

