



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: jsinfo@eimb.ru
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

Мос. от 25.10.2024 № 12312-13/428



«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора ИМБ РАН
академик-корреспондент РАН

В.А. Митькевич

2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Дерябина Александра Сергеевича «Роль белков RPF1 и ERF1 в процессинге пре-рРНК человека», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

Актуальность темы исследования

Работа Дерябина А.С. посвящена изучению биогенеза рибосом – упорядоченного внутриклеточного процесса формирования компетентных к трансляции рибосомных субъединиц. Основное внимание было сосредоточено на белках RPF1 и ERF1, которые являются ранними факторами биогенеза большой и малой субъединиц соответственно. В настоящее время функции данных факторов биогенеза в клетках человека в значительной степени не охарактеризованы.

Формирование зрелых большой (60S) и малой (40S) рибосомных субъединиц и их дальнейшее взаимодействие с образованием 80S рибосом являются важнейшими внутриклеточными процессами, поддерживающими и регулирующими необходимый уровень трансляции в зависимости от потребностей клетки. Таким образом, изучение фундаментальных основ сборки рибосом представляет большой интерес для биологической науки. Представленная работа также соответствует тенденции последних лет, согласно которой при изучении биогенеза рибосом происходит активное замещение объекта исследований с клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на клетки человека, в которых этот процесс значительно усложнен. Развитие криоэлектронной микроскопии и

возможностей *in silico* моделирования структур биополимеров позволило получить некоторые структуры предшественников рибосомных субъединиц человека. Несмотря на это многие функциональные аспекты процесса сборки рибосом остаются не изученными.

Структура диссертации

Диссертационная работа Дерябина Александра Сергеевича построена по традиционной схеме, принятой для диссертаций на соискание степени кандидата наук, изложена на 100 страницах и содержит разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», «Выводы». В работе процитированы 211 источников. Материалы излагаются в логичной последовательности и сопровождаются 26 рисунками.

Содержание диссертации

В «Введении» диссертант представляет краткое описание изучаемой темы, ее актуальность, а также цели и задачи данной работы. Автором приведены 5 положений, выносимых на защиту, и представлены публикации, подготовленные в ходе выполнения диссертационной работы.

Раздел «Обзор литературы» содержит описание структуры эукариотической рибосомы, основных этапов биогенеза рибосом как низших (на примере *S. cerevisiae*), так и высших эукариот (на примере *H. sapiens*), а также данные об участии дрожжевых гомологов Rpf1 и Esf1 в созревании рибосом дрожжей. В целом, раздел содержит все необходимые для понимания работы сведения и демонстрирует высокий уровень диссертанта в понимании изучаемой проблемы.

В разделе «Материалы и методы» приведено детальное описание всех используемых в работе методик, включая современные молекулярно-биологические подходы.

Раздел «Результаты и их обсуждение» включает в себя 7 подразделов, посвященных описанию основных результатов, полученных диссертантом в ходе выполнения работы, а также их обсуждение.

На основании полученных результатов автором сделаны 5 выводов, которые полностью соответствуют поставленным задачам.

Научная новизна

В работе представлены новые данные о роли белков RPF1 и ESF1 в биогенезе рибосом в клетках человека. Полученные результаты убедительно демонстрируют количественные изменения содержания прерибосомных РНК в клетках человека при

подавлении экспрессии как белка RPF1, так и белка ESF1. Также впервые показано, что недостаток данных факторов биогенеза приводит к изменению внутриклеточной локализации одного из важнейших ядрышковых белков NPM1. Интересными наблюдениями являются возрастающая активность РНК полимеразы I в ответ на недостаточность белка RPF1, а также сохранение профилей полисом в клетках с нокдауном.

Полученные результаты не только дополняют уже имеющиеся данные по биогенезу рибосом высших эукариот, но и показывают гибкость путей биогенеза рибосом в зависимости от состояния клетки.

Практическая значимость работы

Результаты работы Дерябина А.С. имеют значение для понимания фундаментальных процессов организации синтеза белка в клетке, в то же время они имеют и практическую значимость. Так, известно, что клетки новообразований ввиду повышенной метаболической активности крайне зависят от эффективной работы рибосом и их быстрого синтеза. Таким образом, предполагается, что определенные типы раковых клеток более зависимы от корректного биогенеза рибосом, чем нетрансформированные клетки, что, в свою очередь, может быть использовано при разработке новых лекарственных препаратов. На сегодняшний день, существует ряд химиотерапевтических агентов, которые нарушают процесс биогенеза рибосом и применяются в клинической практике. Данные препараты, как правило, направлены на РНК-полимеразу I и, тем самым, замедляют синтез новых рибосом. Однако требуется улучшение специфичности существующих и поиск новых соединений, нацеленных на биогенез рибосом. В этой связи, результаты работы Дерябина А.С. могут быть в перспективе применены для разработки новых терапевтических соединений, направленных на подавление синтеза рибосом в опухолевых клетках.

Апробация диссертации

Основные результаты диссертационной работы отражены в публикациях. По теме работы опубликовано 4 статьи в международных рецензируемых журналах.

Замечания и вопросы

В целом, диссертационное исследование Дерябина Александра Сергеевича изложено последовательно и целостно, результаты являются оригинальными и отражают как

новизну данной работы, так и проявленное диссертантом высокое экспериментальное мастерство. Однако есть ряд замечаний и вопросов:

- 1) В работе представлен достаточно полный обзор литературы. В то же время, подписи к рисункам 1, 3, 7 недостаточно детализированы. Кроме того, если изображения на рисунках (напр. 1, 3, 7, 8, 9) не созданы автором работы, целесообразно указывать ссылку на первоисточник.
- 2) Раздел «Введение» в результатах, посвященный белкам RPF1 и ERF1, выглядит несколько нелогичным при наличии разделов с подробной характеристикой этих белков в литературном обзоре. Кроме того, выжимка из всех результатов работы в этом разделе также выглядит несколько не на своем месте.
- 3) Не совсем понятно, почему для получения вирусных частиц использовали клетки HEK293, а не HEK293T.
- 4) Очевидно, что нокдаун RPF1 и ERF1 приводит к снижению содержания белков в клетках. На рисунках 14, 15, 16, 17 данные белки практически не видны и, поэтому не совсем понятно, на что указывают стрелки. Кроме того, изображения клеток слишком маленькие, что затрудняет анализ полученного результата. В этой связи, следовало бы увеличить яркость изображений и увеличить их размер.
- 5) Учитывая различный эффект подавления экспрессии с помощью siRNA и shRNA, было бы интересно оценить период полужизни белков RPF1 и ERF1 в клетках.
- 6) Целесообразно было бы дополнить целый ряд рисунков (например: 12, 18, 19, 22) указанием наличия статистической достоверности выявляемых различий.
- 7) На рисунках, отражающих результаты Вестерн блоттинга, целесообразно указывать молекулярную массу выявляемых белков, а также указывать, антитела к какой изоформе актина были использованы.
- 8) На Рис. 24А (левая часть) не подписано какие фракции градиента анализировали.
- 9) Рисунок 23, шрифт по оси ординат следовало бы увеличить.
- 10) При описании ультрацентрифугирования правильнее указывать количество g, а не количество оборотов ротора в минуту.
- 11) Наконец, в тексте присутствуют не совсем понятные выражения, встречаются неточности и опечатки. Например, ДДТ вместо ДТТ.
- 12) Вышеупомянутые замечания ни в коей мере не снижают высокую научную и практическую ценность работы.

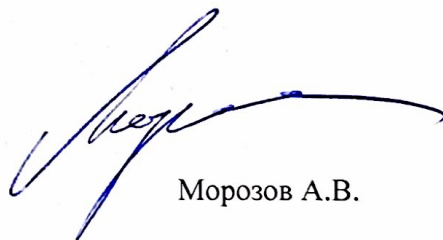
Заключение

Диссертационная работа Дерябина Александра Сергеевича «Роль белков RPF1 и ESF1 в процессинге пре-рРНК человека» является законченной научно-квалификационной работой. Тема диссертационной работы соответствует пунктам 4, 5, 8 и 9 паспорта научной специальности 1.5.3. – Молекулярная биология (биологические науки). По поставленным задачам, уровню их решения и научной новизне полученных результатов данная работа полностью соответствует требованиям п. 9 "Положения о присуждении ученых степеней" утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с актуальными изменениями), а ее автор, Дерябин Александр Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

Диссертационная работа Дерябина Александра Сергеевича «Роль белков RPF1 и ESF1 в процессинге пре-рРНК человека», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология, заслушана и утверждена на объединенном научном семинаре профильных лабораторий ИМБ РАН 06 сентября 2024 г. (протокол №2).

Отзыв на диссертационную работу Дерябина А.С. подготовлен ведущим научным сотрудником ИМБ РАН Морозовым Алексеем Владимировичем.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории регуляции внутриклеточного протеолиза
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института молекулярной биологии
имени В.А. Энгельгардта РАН,
доктор биологических наук
по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология



Морозов А.В.

119991, Москва, ул. Вавилова, д. 32
Тел.: +7(499)135-9801
E-mail: morozovav@imb.ru

Я, Морозов Алексей Владимирович, настоящим даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ИБХ РАН и в Федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело соискателя и дальнейшую обработку.

Морозов А.В.

Подпись д.б.н. Морозова А. В. удостоверено
Ученый секретарь ИМБ РАН, к.ф.м.н.
«25» октября 2024 года



Коновалова Е.В.