

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Леконцевой Натальи Владимировны
на тему: «Структурно-функциональные исследования РНК-связывающих
свойств белков семейства Lsm из архей»
по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология»

Диссертационная работа Леконцевой Н.В. посвящена изучению структурно-функциональной организации Lsm-белков архей. Эти белки являются представителями эволюционно-консервативного семейства факторов, взаимодействующих с РНК и имеющих важные функции в регуляции РНК-РНК взаимодействий, формировании РНК-белковых комплексов и метаболизме РНК. Самыми известными представителями этого семейства у эукариот являются Sm-белки, входящие в состав малых ядерных РНП и сплайсосомы. Классическим примером Sm-белков у бактерий служит белок Hfq – глобальный регулятор транскрипции и трансляции, отвечающий за взаимодействия многих малых регуляторных РНК с различными мРНК-мишенями. Археи также содержат Sm-подобные белки (Lsm, от Sm-like), но они исследованы гораздо меньше; в частности, почти ничего неизвестно про их функции и возможную регуляторную роль в клетке. Несомненная актуальность представленной работы определяется тем, что структурные исследования этих белков, дополненные анализом их биохимических свойств и взаимодействий с различными лигандами, способны пролить свет на их клеточные функции у архей и в целом расширить знания о роли этого высококонсервативного семейства факторов в регуляции экспрессии генов.

Диссертация Леконцевой Н.В. изложена на 123 странице и включает в себя следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Выводы и Список литературы, содержащий 127 ссылок. Ниже кратко рассмотрены отдельные разделы работы с некоторыми замечаниями по каждому из них.

Обзор литературы посвящен исследованиям структурно-функциональной организации Sm-белков. В нем последовательно рассмотрены особенности структуры Sm-белков у разных организмов, их известные функции и взаимодействия с различными РНК-субстратами у эукариот и бактерий, а также существующие (достаточно разрозненные) данные о клеточных партнерах и возможных функциях Lsm-белков архей. Значительное внимание автор уделяет именно структурным данным о строении различных Sm-белков, что вполне оправданно с точки зрения темы диссертации. Обзор снабжен большим количеством рисунков, детально иллюстрирующих структурные особенности рассматриваемых факторов. Незначительные замечания к обзору связаны в основном с наличием опечаток и неудачных или непонятных описаний (вероятно, это связано с неточностями перевода). Так, в первом предложении на стр. 25 сказано, что «в репликативно-зависимых гистонах отсутствуют поли(А) концы», сверху стр. 50 идет речь об «эндонуклеазах сплайсинга», участвующих в процессинге архейных РНК, а на стр. 51 приведены непонятные рассуждения о возможном метилировании (или его отсутствии) архейных Lsm-белков. Вместе с тем, обзор полностью выполняет свою функцию и дает подробную картину данной тематики исследований.

В разделе Материалы и Методы перечислены использованные материалы и приведены детальные методики исследования, включая стандартные методы работы с бактериальными клетками, нуклеиновыми кислотами и белками, специфические методики очистки и кристаллизации Lsm-белков, примененные в данной работе, а также использованные методы измерения их взаимодействий с нуклеотидами и РНК, в том числе, флуоресцентно-мечеными. Основное замечание к этому разделу связано с отсутствием описания того, как вычисляли кинетические и равновесные константы взаимодействий Lsm-белков с РНК и нуклеозидмонофосфатами. Кроме того, здесь также присутствует достаточно большое количество опечаток. В то же время, все необходимые методики описаны детально и могут быть легко воспроизведены в лаборатории.

Раздел Результаты и обсуждение посвящен описанию выполненных экспериментов и вероятной интерпретации полученных данных. Работа состоит из двух частей, посвященных структурному анализу трех архейных Lsm-белков и их комплексов с нуклеозидмонофосфатами, а также биохимической характеристике взаимодействий этих белков с РНК и нуклеотидами. Структурная часть производит прекрасное впечатление по объему выполненных экспериментов и качеству представления результатов. В работе детально рассмотрены особенности охарактеризованных комплексов Lsm-белков в сравнении с уже известными данными. В биохимической части с использованием структурных данных проведен анализ взаимодействий этих белков с несколькими РНК-субстратами, а также УМФ и АМФ, и выявлены существенные отличия этих белков от бактериальных гомологов. Среди наиболее важных результатов работы стоит отметить определение целого ряда структур свободных Lsm-белков архей и их комплексов, а также открытие способности этих белков осуществлять плавление вторичной структуры РНК в отсутствие дополнительных факторов. Результаты биохимических экспериментов хорошо согласуются со структурными данными. В целом, полученные результаты, несомненно, вносят большой вклад в понимание структурной организации Lsm-белков и могут служить основой для дальнейших исследований их функциональной роли в клетках архей.

Некоторые критические замечания связаны с представлением и обсуждением полученных данных. Так, недостаточно подробно описаны эксперименты по определению кинетических параметров взаимодействий Lsm-белков с РНК (в частности, в таблицу 12 стоило бы добавить значения кинетических констант связывания и диссоциации). Для того, чтобы утверждать, что связывание олиго(А) РНК с Lsm-белком M₁a носит неспецифический характер, стоило бы также проверить его взаимодействия с другими неспецифическими последовательностями РНК. В конце работы не хватает обсуждения результатов в контексте возможных клеточных функций

архейных Lsm-белков. Заключительный раздел «Перспективы» состоит всего из нескольких общих фраз о том, что дальнейшие исследования помогут узнать функции этих белков – здесь стоило бы описать конкретные эксперименты, которые помогли бы достичь этой цели.

В заключение можно сказать, что диссертационная работа Леконцевой Н.В. представляет собой целостное законченное исследование, в котором получены важные данные о структурно-функциональной организации Lsm-белков. Работа в целом хорошо оформлена, изложение всех разделов логично, текст проиллюстрирован многочисленными рисунками. Как уже говорилось, в тексте присутствует определенное количество ошибок (среди наиболее встречающихся стоит отметить употребление термина «рибонуклеотидмонофосфат» вместо «рибонуклеозидмонофосфат», неправильные окончания в некоторых словах). В то же время, сделанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Результаты диссертационной работы Леконцевой Н.В. опубликованы в четырех статьях в рецензируемых журналах (в том числе, три зарубежные публикации) и представлены на многочисленных российских и международных конференциях. Публикации по результатам работы характеризуют высокий уровень исследования. Автореферат диссертации полностью отражает содержание и выводы работы.

В целом, диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.03 – «молекулярная биология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Леконцевой Н.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
заведующий Лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института молекулярной генетики Российской академии наук
Кульбачинский Андрей Владимирович

12.04.2018

Контактные данные:

тел.: +7(499)1960015, e-mail: akulb@img.ras.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 03.00.03 – молекулярная биология

Адрес места работы:

123182, г. Москва, площадь академика И.В. Курчатова, д. 2.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт
молекулярной генетики Российской академии наук», лаборатория
молекулярной генетики микроорганизмов

Тел.: +7(499)1960015; e-mail: akulb@img.ras.ru

Подпись А.В. Кульбачинского заверяю

Ученый секретарь ИМГ РАН,
кандидат биологических наук



Л.Е. Андреева

12.04.2018