

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Смирновой Виктории Владимировны
на тему: «Изучение функции белка DAP5 в трансляции»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология»**

Диссертационная работа В.В. Смирновой посвящена изучению функциональной роли белка DAP5 в трансляции. DAP5 встречается только у животных и гомологичен известному фактору инициации трансляции eIF4G1, играющему ключевую роль в узнавании кепированного 5'-конца эукариотической мРНК и посадки на него 40S рибосомы. Несмотря на значительную гомологию с eIF4G1, DAP5 имеет существенные отличия: он не может связывать белок eIF4E и принимать участие в связывании кепа на 5'-конце мРНК, но может взаимодействовать с иницирующим фактором eIF2, несущим Мет-тРНК.

Хотя DAP5 был идентифицирован около 25 лет назад и описан более чем в 50 различных публикациях, до настоящего времени его функциональная роль в трансляции оставалась невыясненной, а в большинстве работ высказывалась гипотеза в его роли в ке-п-независимой трансляции, способствуя связыванию рибосом с так называемыми клеточными IRES-элементами. С этой точки зрения данная диссертационная работа представляет исключительную научную значимость, поскольку Смирновой В.В. впервые установлено, что DAP5 участвует в канонической ке-п-зависимой инициации трансляции, причем не на стадии узнавания кепированного 5'-конца мРНК, а на следующем этапе – в процессе сканирования 5'-UTR 43S рибосомным комплексом в поисках стартового кодона. По результатам исследования предложен механизм, согласно которому DAP5 вступает в действие в случае остановок 43S комплекса, например, в случае каких-либо структурных препятствий, что приводит к диссоциации фактора eIF4G1 и его замене на DAP5. Автор диссертации и ее коллегами доказано, что одним из таких препятствий могут быть upstream reading frames (uORFs), которые часто встречаются в 5'-UTR мРНК животных. Однако, существуют также DAP5-зависимые 5'-UTR, у которых uORFs отсутствуют.

Диссертантом был использован целый набор современных экспериментальных методов, особое место среди которых, разумеется, занимает технология рибосомного профайлинга. Метод использовался при анализе трансляции мРНК в клетках с инактивацией DAP5 по сравнению с контрольными, на основании полученных результатов были выбраны наиболее интересные мишени для исследования. Далее была создана коллекция разнообразных генетических конструкций различных мРНК и их 5'-UTR для подтверждения результатов с помощью люциферазных репортеров. Финальная валидация идентифицированных DAP5-зависимых 5'-UTR проводилась путем трансфекции репортерных мРНК в клеточные линии с нокаутом DAP5 с помощью киРНК. В целом Смирновой В.В. был проведен огромный объем экспериментальной работы с использованием самых передовых методов молекулярной биологии. Отдельно хотелось бы отметить часть диссертации, посвященной взаимодействию DAP5 и поли(С)-связывающего белка PCBP2. В этом

разделе В.В. Смирнова показывает, что она прекрасно владеет методами *in vitro*, в частности получением рекомбинантных белков и их использованием в транскрипционном экстракте. Эти опыты интересны с точки зрения взаимной регуляции транскрипции DAP5 и PCBP2 по принципу обратной связи. Кроме того, Смирновой В.В. получены интересные данные о природе регуляции белком DAP5 транскрипции различных изоформ мРНК BCL-2, то есть проведено весьма разностороннее изучение возможных механизмов влияния DAP5, в том числе и актуальных с точки зрения канцерогенеза.

Среди замечаний стоит отметить некоторое сумбурное описание объектов исследования, а именно клеточных линий, используемых в работе (а впоследствии генов и мРНК), часть из которых мышиные, часть – человеческие. Особенно на исходных стадиях описания результатов профайлинга не совсем понятно почему нокаун и нокаут делался в разных организмах. Или, например, неожиданное без особого объяснения появляются клетки Huh7.

Тем не менее указанный факт не снижает ценности полученных результатов и представленная работа является крайне актуальным исследованием, представляющим совершенно новые результаты, имеющие очевидную значимость для науки. Отдельно отметим, что результаты работы опубликованы в иностранных журналах с высоким импакт-фактором.

Таким образом, работа без сомнения отвечает требованиям к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова, а соискатель Смирнова Виктория Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология».

Научный сотрудник

Центра молекулярной и клеточной биологии

Сколковского института науки и технологий

к.х.н.

Буренина Ольга Юрьевна

«26» мая 2022 г.

Руководитель отдела
Кадрового администрирования

Сколковский институт науки и тех.

Почтовый адрес: 121205, г. Москва, Большой бульвар д.30, стр.1

Телефон: +7 (495) 280 14 81

Email: alunit@inbox.ru