

ОТЗЫВ

официального оппонента
о диссертационной работе

Васильевой Елены Андреевны

на тему

«РОЛЬ ЛИЗИН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 В РЕГУЛЯЦИИ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА SAM68»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
03.01.03 – молекулярная биология.

Актуальность работы.

Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности в мире и эта статистика неуклонно возрастает. Одним из факторов неопластической трансформации и развития рака является белок Sam68, относящейся к STAR-семейству РНК-связывающих белков. Показано, что повышение экспрессии Sam68 в раковых клетках достоверно коррелирует со степенью туморогенности и наличием отдаленных метастаз у пациентов, а пациенты с высоким уровнем экспрессии или ядерной локализацией Sam68 демонстрируют худшие показатели по общей выживаемости. С другой стороны известно, что Sam68 экспрессируется во всех тканях организма и играет важную роль в процессах транскрипции, альтернативного сплайсинга и последующего экспорта мРНК из ядра. Кроме того, Sam68 является регулятором клеточного цикла и апоптоза. Основными регуляторами локализации, стабильности и функции Sam68 являются его посттрансляционные модификации, которые, вероятно, опосредуют роль Sam68 в канцерогенезе. Однако, посттрансляционная регуляция Sam68, в частности механизмы его метилирования, еще недостаточно хорошо изучена. Одним из вероятных факторов, принимающих участие в метилировании Sam68 может являться монометилтрансфераза Set7/9. Показано, что Set7/9 метилирует не только гистоны, но и негистонные субстраты. Также опубликованные данные свидетельствуют о вовлеченности Set7/9 в процессы канцерогенеза. В данной работе изучена роль метилтрансферазы Set7/9 в регуляции РНК-связывающего белка Sam68, что является актуальным вопросом в контексте фундаментальной науки и прикладной медицины.

Научная новизна.

В работе впервые было доказано не только наличие физического взаимодействия между метилтрансферазой Set7/9 и РНК-связывающим белком Sam68, но и были идентифицированы специфические домены, отвечающие за их взаимодействие. Комплексный методический подход и анализ полученных данных наглядно показал устойчивое взаимодействие между MORN- и RG- доменами Set7/9 и Sam68, а также был определен новый сайт метилирования Sam68 (K208) метилтрансферазой Set7/9. Анализ внутриклеточной локализации Sam68 показал преобладающую локализацию Sam68 в ядре. При этом цитоплазматическая локализация Sam68 зависит от уровня экспрессии Set7/9 и связана с образованием апоптотической сети микротрубочек и опосредована способностью Sam68 ассоциироваться с α -тубулином. Впервые показано, что Set7/9 необходима для Sam68-опосредованной репрессии циклинов D1 и E, а также регуляции клеточного цикла.

Научно-практическая значимость диссертационной работы.

Результаты диссертационной работы Е.А. Васильевой несомненно имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Полученные данные важны для понимания Sam68-опосредованных внутриклеточных механизмов регуляции сплайсинга, клеточного цикла и апоптоза. Показанная роль Set7/9 в регуляции функций белка Sam68 в клетках рака толстой кишки может лечь в основу создания базы для разработки таргетной противоопухолевой терапии.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Васильевой Елены Андреевны состоит из введения, обзора литературы, методов, результатов, обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 98 ссылок. Текст диссертации изложен на 111 страницах и проиллюстрирован 26 рисунками и 3 таблицами хорошего качества. Работа написана хорошим ясным языком и с интересом читается.

В обзоре литературы детально обсуждены основные данные о молекулярных механизмах действия Sam68 и Set7/9, их биологическая роль, а также механизмы регуляции функциональной активности Sam68 и Set7/9. Принципиальных замечаний к этому разделу нет, кроме того, что, к сожалению, не описана роль Set7/9 в канцерогенезе.

Таких работ немного, но эти данные логично бы связывали проведенное исследование роли Set7/9 в регуляции Sam68.

Работа выполнена на высоком методическом уровне, поражает использованный автором арсенал трудоемких и современных молекулярно-биологических методов. Несомненным достоинством является комбинация экспериментальных моделей *in vivo* и *in vitro*. Единственным замечанием по этому разделу является отсутствие раздела о методах статистического анализа, использованного автором.

Результаты работы очень подробно и логично описаны, и хорошо проиллюстрированы. К этой главе есть небольшие замечания. В подписях к рисункам 17, 21, 22 и 23 не указано, в каких единицах представлены результаты, вероятно проценты, также не указаны разбросы («усы») – это стандартные отклонения или ошибка среднего? Ни в одном из Вестерн-блотов не указаны молекулярные веса исследуемых белков. Обсуждение результатов логично и обосновано написано. По этому разделу есть дискуссионный вопрос. Полученные результаты свидетельствуют о том, что роль Sam68 в процессах апоптоза может быть связана с Set7/9 опосредуемой транслокацией Sam68 в цитоплазму, где Sam68 связывается с бета-тубулином и принимает непосредственное участие в образовании апоптотической сети микротрубочек. К тому же показано, что метилтрансфераза Set7/9 вовлечена в регуляцию Sam68-опосредованного сплайсинга Bcl-x. С другой стороны, проведенный автором биоинформатический анализ свидетельствует о лучших прогнозах выживаемости пациентов с высоким уровнем экспрессии обоих изученных белков. Считает ли автор, что повышенная экспрессия Set7/9 и Sam68 в раковых клетках может стимулировать их апоптотическую гибель и, тем самым, снижать туморогенность?

Хочу отметить, что высказанные мной замечания по данной работе не принципиальны и не умаляют значимость проведенного исследования.

Научные положения диссертационной работы Елены Андреевны Васильевой полностью обоснованы. Положения выносимые на защиту и выводы диссертации сформулированы на основе полученных данных и отвечают поставленным задачам. Автореферат полностью соответствует диссертации. Основные результаты диссертации представлены в 9-ти печатных работах, из них 4 статьи опубликованы в высокорейтинговых журналах, также исследования успешно представлялись автором на международных конференциях.

Заключение

Диссертационная работа Е.А. Васильевой «Роль лизин-специфической метилтрансферазы SET7/9 в регуляции РНК-связывающего белка SAM68» является законченным научным исследованием, в котором выявлены новые молекулярные механизмы взаимодействия между метилтрансферазой Set7/9 и РНК-связывающим белком Sam68 *in vivo* и *in vitro*. Диссертация Е.А. Васильевой «Роль лизин-специфической метилтрансферазы SET7/9 в регуляции РНК-связывающего белка SAM68» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. за №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Официальный оппонент

заведующая Лабораторией сравнительной
биохимии клеточных функций ИЭФБ РАН

Кандидат биологических наук

По специальности 03.00.11 – эмбриология, гистология, цитология

Глазова Маргарита Владимировна

08.02.2018



Подпись руки
удостоверяю
зав. канцелярией
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
08.02.2018

Адрес: 194223, Россия, г. Санкт-Петербург,

проспект Тореза, д. 44

Федеральное государственное бюджетное учреждение

науки Институт эволюционной физиологии и

биохимии имени И. М. Сеченова РАН,

Санкт-Петербург

Телефон: +7-921-7870034

Сайт: www.iephb.ru

e-mail: mglazova@iephb.ru