

ОТЗЫВ
официального оппонента
на диссертационную работу

Васильевой Елены Андреевны

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

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Актуальность и новизна диссертационного исследования

Изучение молекулярных механизмов функционирования и регуляции белков является важным этапом в понимании патогенеза онкологических заболеваний. Sam68 (SRC associated in mitosis of 68 kDa) является членом РНК-связывающего семейства STAR-белков (Signal Transduction and Activation of RNA metabolism domain). Показана роль Sam68 при таких онкологических заболеваниях как рак толстой кишки, мочевого пузыря, карцинома почки, рак простаты, карцинома пищевода, рак шейки матки и рак груди. Белок Sam68 может подвергаться посттрансляционным модификациям, оказывающим различное влияние на его локализацию, стабильность и функцию. Тот факт, что экспрессия Sam68 повышена в клетках рака толстой кишки человека, достоверно коррелируя со степенью опухоленности и наличием отдаленных метастаз у пациентов, делает изучение регуляции Sam68 актуальным вопросом фундаментальной науки и прикладной медицины. В диссертационной работе Васильевой Е.А. изучена роль метилтрансферазы Set7/9 в регуляции РНК-связывающего белка Sam68.

В частности, Васильева Е.А. впервые показала, что РНК-связывающий белок Sam68 взаимодействует с метилтрансферазой Set7/9 *in vivo* и *in vitro* путем взаимодействия их RG- и MORN- доменов, соответственно. Более того, впервые было показано, что метилтрансфераза Set7/9 метилирует КН-домен РНК-связывающего белка Sam68 по лизину К в положении 208 (K208).

Интересными являются полученные данные о том, что РНК-связывающий белок Sam68 локализуется преимущественно в ядре, и, в меньшей степени, в цитоплазме клеток

НЕК293Т и рака толстой кишки человека НСТ116. Sam68 может ассоциироваться с α -тубулином в процессе формирования апоптотической сети микротрубочек.

Васильевой Е.А. впервые были получены важные данные о том, что отсутствие метилтрансферазы Set7/9 приводит к снижению белкового уровня Sam68 в цитоплазме клеток НЕК293Т и НСТ116. Более того, метилтрансфераза Set7/9 вовлечена как в регуляцию сплайсинга Bcl-x, так и в Sam68-опосредованную регуляцию клеточного цикла. Кроме того, наличие метилтрансферазы Set7/9 необходимо для Sam68-опосредованной репрессии циклинов D1 и E.

Важно отметить, что полученные Васильевой Е.А. результаты согласуются с данными о выживаемости пациентов с раком толстой кишки. В частности, в диссертации показано, что высокие уровни экспрессии двух белков Set7/9 и Sam68 коррелируют с лучшей выживаемостью пациентов с раком толстой кишки, в то время как пациенты с низким уровнем экспрессии Set7/9 и высоким уровнем экспрессии Sam68 демонстрируют худшую выживаемость. Таким образом, низкий уровень Set7/9 при раке толстой кишки человека может рассматриваться как негативный прогностический маркер в контексте выживаемости пациентов.

Общая характеристика работы

Диссертация Васильевой Е.А. состоит из следующих глав: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», и их «Обсуждение», «Выводы», «Список цитируемой литературы», включающий 98 источников, и «Благодарности». Диссертация изложена на 111 страницах. Иллюстративный материал содержит 26 рисунков и 3 таблицы. Обзор литературы написан правильным понятным научным языком и освещает современное состояние науки в области диссертационного исследования. Автором подробно описаны структурные и функциональные особенности РНК-связывающего белка Sam68 и метилтрансферазы Set7/9. Приведены имеющиеся на сегодняшний день сведения о посттрансляционных модификациях Sam68 и механизмах регуляции функции этого белка. В целом, обзор литературы продемонстрировал глубокое владение автором изучаемой научной области.

В своей диссертационной работе Васильева Е.А. использовала широкий спектр современных молекулярно-биологических методов и подходов. В частности, в разделе «Материалы и методы» приводятся методики культивирования и получения

модифицированных стабильных клеточных линий. Васильева Е.А. подробно описала использованные подходы к изучению белок-белковых взаимодействий, методики экспрессии, очистки и анализа рекомбинантных белков. Для достижения поставленных целей Васильевой Е.А. также применялись биоинформатический анализ, сайт-направленный мутагенез, ПЦР в реальном времени, метилирование *in vitro*, электрофорез, иммуноблоттинг, иммуноцитохимия и проточная цитофлуориметрия. Все использованные в работе методы адекватны поставленным задачам.

Достоверность результатов данного диссертационного исследования не вызывает сомнений. Описание полученных результатов приводится достаточно подробно.

В разделе «Обсуждение» Васильева Е.А. критически анализирует полученные результаты, проводя сравнение с имеющимися на сегодняшний день литературными данными.

Автореферат полностью отражает основное содержание и выводы работы.

По результатам данной диссертации опубликованы 9 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых международных и отечественных научных журналах из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ, а также 5 тезисов докладов на международных и отечественных конференциях. Таким образом, диссертационная работа Васильевой Е.А. соответствует требованиям ВАК РФ по степени представленности результатов в печатных работах и апробации на конференциях.

Заключение

Диссертация Васильевой Е.А., выполненная на высоком методическом и научном уровне, является целостным исследованием и заслуживает высокой оценки. Считаю, что диссертационная работа Васильевой Елены Андреевны “Роль лизин-специфической метилтрансферазы Set7/9 в регуляции РНК-связывающего белка Sam68”, выполненная под руководством д.б.н. Николая Анатольевича Барлева, является законченной квалификационной работой и содержит новые данные о роли Set7/9 в регуляции РНК-связывающего белка Sam68. Более того, представленная работа может рассматриваться как важный задел для дальнейшего применения полученных знаний для составления прогноза выживаемости пациентов с раком толстой кишки. Считаю, что диссертация соответствует всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к кандидатским

диссертациям, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Заведующий отделом биологии
опухолевого роста федерального
государственного бюджетного учреждения
"Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии имени
Н.Н. Петрова" Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
Санкт-Петербург

доктор медицинских наук по
специальностям 14.00.14 – онкология и
03.00.04 - биохимия

профессор, член-корреспондент РАН

Е.Н. Имянитов

14 февраля 2018 г.

Подпись *Имянитов ЕН*

заверяю

Ученый секретарь

Е.В. Демин



Адрес: 197758, С.-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68,
www.niioncologii.ru/,

ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России

тел.: +7(812) 439-95-55

e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru