

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

**Авериной Ольги Александровны на тему: «Изучение физиологической роли нового митохондриального белка Миторегулина на модели мышей с отредактированным геномом»**

на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.3. – «Молекулярная биология» (химические науки)

Диссертация посвящена физиологической роли одного из новых митохондриальных белков Миторегулина, который контролирует накопление триглицеридов и их метаболизм в адипоцитах, участвует в процессах миогенной дифференцировки в клетках скелетных мышц, играет определенную роль в патогенезе рака. Актуальность выполненного исследования связана с поиском объективных критериев, позволяющих фенотипировать малоизученные мутации митохондриальных белков и выявить механизмы их проявления на уровне целого организма.

**Целью исследования** явилось изучить физиологическую роль нового митохондриального белка Миторегулина (Mtlн) на модели мышей с отредактированным геномом.

Для достижения цели автор поставила перед собой следующие **задачи**:

1. Сравнительный анализ и подбор оптимальных технологий и условий для создания мутантных мышей.
2. Подробное фенотипирование мышей, нокаутных по гену *1500011k16Rik*.

**Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Несомненная научная новизна работы, заключается в том, что получены мыши с нокаутом по гену *1500011k16Rik*, установлено влияние Mtlн на бета-окисление жирных кислот, доказано накопление жира и увеличение массы тела животных на фоне высокожировой диеты. Показана взаимосвязь между цитохром b5 редуктазой 3 (Cyb5r3) и белком Mtlн в защите кардиолипина от повреждения. Дополнены данные о влиянии белка Mtlн на функционирование почек и доказана важная роль гена *1500011k16Rik (Mtlна)* в развитии возрастных патологических изменениях почек, представляющих угрозу жизни.

**Значимость для науки и практики, полученных автором результатов.**

Экспериментальные данные, полученные в выполненном исследовании, могут быть положены в основу теоретического обоснования физиологической роли малоизученных митохондриальных белков в механизмах

митохондриальных нарушений у человека. Полученные результаты имеют важное практическое значение, связанное с изучением возможной клинической картины при мутации гена LINC00116, кодирующего белок Миторегулин у человека.

**Степень обоснованности** научных положений и выводов, изложенных в диссертации, определяется большим объемом экспериментального материала, полученного с применением различных современных методов исследования и соответствующего оборудования.

**Достоверность** полученных результатов не вызывает сомнений и подтверждается воспроизводимостью экспериментов и статистической обработкой данных. Все экспериментальные процедуры соответствуют поставленным целям и задачам. Результаты получены на современном научном оборудовании. Диссертационное исследование соискателя является результатом самостоятельной работы.

#### **Общая характеристика работы**

Диссертация построена по классической схеме, изложена на 236 страницах машинописного текста и состоит из оглавления, введения, обзора литературы, материалов и методов, описания результатов и их обсуждения, заключения и выводов, списка сокращений и списка литературы, который включает 646 источников. Материал иллюстрирован 43 рисунками и 9 таблицами.

**По материалам диссертации опубликовано 5 работ** в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.014.2 по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (химические науки).

**Во введении** автор грамотно обосновывает актуальность темы избранного исследования, формулирует цель и задачи работы. Изложена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту.

**Обзор литературы** достаточно полно отражает современное состояние проблемы. В соответствии с темой исследования проанализированы работы авторов, описывающие различные современные инструменты редактирования генома, проанализированы различные стратегии скрининга и вычислительные подходы для обнаружения новых микропептидов, проанализированы различные митохондриальные расстройства, связанные с патогенными мутациями, вызванными мидНК и яДНК, проявляющиеся в специфических фенотипах. В целом, обзор литературы написан логично и содержит

информацию об основных работах, результаты которых автор в дальнейшем учитывает при проведении собственных экспериментальных работ.

**Раздел «Материалы и методы исследования»** изложен очень хорошо и логично. Профессионально описана организация эксперимента, в работе были использованы современные методы, соответствующие мировым стандартам. В работе использовано достаточно большое число животных около 850 мышей, получено 10 тыс яйцеклеток, которые трансплантированы более чем 300 суррогатным матерям, у которых родилось более 380 мышат. Таким образом, выполнен спектр очень трудоемких работ. В результате которого получено 34 линии мышей с направленными изменениями в 16 генах.

Кроме методов редактирования генома в работе также представлены другие методы: прижизненный анализ функциональной активности почек с использованием миниатюрного флуоресцентного детектора, патоморфологические методы анализа органов со стандартными и инновационными подходами гистологической окраски, методы биохимического анализа метаболитов сыворотки крови, магнитно-резонансная томография, тандемная масс-спектрометрия со стандартами, метод полярографического анализа дыхания, метод тонкослойной хроматографии, спектрофотометрическое определение активности креатинкиназы, иммуноблоттинг, метод количественной ПЦР.

Подробное изложение использованных материалов и методов существенно расширяет круг специалистов, которые могут использовать предложенные методы в своих исследованиях. В целом, этот раздел позволяет сделать вывод, что автор владеет современными методами организации и проведения эксперимента, хорошо в них разбирается и грамотно обрабатывает и представляет результаты многочисленных экспериментов.

В разделе **«Результаты и обсуждение»** подробно изложены данные, полученные в результате проведенных экспериментов. В главе представлено множество информативных рисунков и таблиц, авторские схемы, описывающие роль белка миторегулина в энергетическом обмене, представлена модель функционирования миторегулина как медиатора окисления жирных кислот. В целом материалы главы написаны логично и последовательно, на профессиональном уровне, адекватно отражают представленные результаты, имеют выраженную научно-прикладную направленность, что нашло отражение в выводах и представляет несомненный интерес для специалистов, занимающихся схожими проблемами в области молекулярной биологии и биохимии.

Несмотря на отмеченные явные положительные стороны работы, при рассмотрении возникли отдельные **замечания**, имеющие дискуссионный и рекомендательный характер.

1. Ссылку на публикацию в журнале Acta Naturae следовало бы указывать для русскоязычной версии журнала.

2. На с. 123 диссертации изложены методы выделения митохондрий, хотелось бы уточнить из скольких образцов тканей были выделены митохондрии? Сколько технических измерений электродами Кларка было сделано при анализе эффективности дыхания митохондрий.

3. Хотелось бы уточнить, при изложении результатов уровень метаболитов представлен в сыворотке крови, смотрели ли метаболиты в тканях, в которых оценивали эффективность митохондриального дыхания?

4. В диссертации на с.189 представлена модель функционирования митофузина, и его роль в развитии метаболических нарушений, связанных со снижением активности комплекса I дыхательной цепи. Хотелось бы знать мнение автора, как будут связаны выявленные нарушения с кальциевым гомеостазом клетки, и будет ли оказывать это влияние на мембранный потенциал митохондрий, и в конечном счете на продукцию АТФ? Согласно работе (Stein CS, Jadiya P, Zhang X, McLendon JM, Abouassaly GM, Witmer NH, Anderson EJ, Elrod JW, Boudreau RL. Mitoregulin: A lncRNA-Encoded Microprotein that Supports Mitochondrial Supercomplexes and Respiratory Efficiency. Cell Rep. 2018 Jun 26;23(13):3710-3720.e8) сверхэкспрессия миторегулина увеличивает мембранный потенциал митохондрий, скорость дыхания и способность аккумулировать  $Ca^{2+}$ .

Вместе с тем, указанные замечания/вопросы не умаляют значимости диссертационного исследования как современного высококвалифицированного инновационного исследования актуальной научной проблемы.

Диссертация Авериной Ольги Александровны «Изучение физиологической роли нового митохондриального белка Миторегулина на модели мышей с отредактированным геномом» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.3. – «Молекулярная биология» (химические науки), 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 требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени

кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Аверина Ольга Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.3. – «Молекулярная биология» (химические науки).

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук,

Директор Объединённого центра генетических технологий федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

Дейкин Алексей Васильевич

«14» декабря 2023 года

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 1.5.3 – Молекулярная биология

Адрес места работы: Россия,

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

Тел.: рабочий телефон; e-mail: адрес официальной почты

Подпись Дейкина Алексея Васильевича ЗАВЕРЯЮ:

И.о. директора департамента управления персоналом

И.И. Калюжа

«14» декабря 2023 года