

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
Авериной Ольги Александровны
на соискание ученой степени кандидата химических наук
на тему: **«Изучение физиологической роли нового митохондриального белка Миторегулина на модели мышей с отредактированным геномом»**
по специальности 1.5.3. – «Молекулярная биология» (химические науки)

Диссертация Авериной О.А. посвящена изучению физиологической роли нового митохондриального белка Миторегулина (Mtlн, ген *1500011K16Rik*) на модели мышей с отредактированным геномом.

Объем и структура диссертации: диссертация Авериной О.А. построена по классической схеме, изложена на 236 страницах машинописного текста и состоит из разделов «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список 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), что является вполне достаточным для выполнения всех требований, предъявляемых к количеству публикаций и уровню журналов для допуска кандидатских диссертаций к защите.

Представленная к защите работа Авериной О.А. посвящена фундаментальному исследованию процессов, связанных с мутациями в генах, кодируемых мтДНК митохондриальной или ядерной ДНК и крайне гетерогенной группой наследственных заболеваний, так называемых митохондриальных расстройств. Автор провел целый комплекс работ с использованием впечатляющего арсенала новейших методов молекулярной биологии, биохимии, клеточной биологии и медико-биологических экспериментов, направленных на исследования процессов, происходящих на

молекулярном уровне. Другими словами, диссертация Авериной О.А. является прекрасным примером работы, выполненной в соответствии с общей парадигмой трансляционной медицины: от поиска молекулярных механизмов патологических процессов и определения важнейших мишеней до создания новых методов диагностики и терапии серьезных наследственных заболеваний, к которым относятся митохондриальные расстройства.

Основная цель диссертационной работы Авериной О.А. – изучение физиологической роли нового митохондриального белка Миторегулина, кодируемого геном *1500011K16Rik*. на модели мышей с отредактированным геномом. Для достижения этой цели автором были поставлены и решены следующие задачи:

1. Сравнительный анализ и подбор оптимальных технологий и условий для создания мутантных мышей.
2. Подробное фенотипирование мышей, нокаутных по гену, кодирующему белок миторегулин *Mtln* (ген *1500011K16Rik*).

Литературный обзор занимает 100 страниц, что составляет примерно половину объема диссертации. Такой большой объем обзора обусловлен, по-видимому, прежде всего междисциплинарным характером выполненной работы, состоящей из трех разделов, каждый из которых необходим при обосновании очередности, когда каждый последующий шаг вытекает из успешного результата предыдущего. Первый параграф обзора посвящен специфике CRISPR/Cas опосредованного редактирования генома». На основе анализа литературных данных соискателем для решения задачи по оптимизации технологии создания мутантных мышей были выбраны и успешно применены два, а именно – гомологическая рекомбинация (HR) с использованием различных вариаций ДНК-матриц и технология прайм-редактирования второго поколения (PE2).

4. Второй раздел литературного обзора посвящен сравнительно недавно открытому классу белков – митохондриальным микропептидам, и особенно митохондриальным микропептидам, кодируемым ядерным геномом

(ранее гены этих пептидов были отнесены к длинным некодирующим РНК). В резюме этого обзора диссертантом очень четко подмечено, что митохондрии являются эволюционной площадкой для множества недавно открытых микропептидов, которые могут быть как биомаркерами, так и средствами диагностики заболеваний.

5. И наконец, в третьем разделе литобзора диссертант обсуждает последние публикации, связанные с изучением митохондриальных заболеваний, вызванных мутациям в ядерных генах, для которых разработаны соответствующие животные модели. Этим обзором автор как бы подводит читающего диссертацию к пониманию поэтапного подхода к решению поставленной в работе цели – с помощью моделирования митохондриальных заболеваний на живых организмах (в данном случае – мышах) показать, как мутации, вызванные мтДНК или яДНК проявляются в специфических фенотипах.

6. В целом обзор литературы включает в себя достаточно полный набор современных работ, значительная часть которых была опубликована за последние 10 лет, она отлично проиллюстрирована и позволяет получить хорошее представление о состоянии данной области науки в настоящее время.

7. Раздел «Материалы и методы» содержит детальное описание всех методик, использованных автором, в том числе и тех, что были впервые разработаны и опробованы в ходе данного исследования. В соответствии с современными стандартами научных публикаций, соискатель весьма подробно осветил широчайший диапазон методик, включающий сложные медицинские аспекты – оценку общего состояния животных, хирургические процедуры, проведение поведенческих и физиологических тестов, исследование функционирования различных органов мышей нокаутных по гену миторегулина (Mtlⁿ, 1500011k16Rik). Отдельного внимания заслуживают биохимические и физико-химические эксперименты, позволившие с высокой степенью достоверности установить ключевые молекулярные механизмы с участием Mtlⁿ, выявить последствия нокаута по интересующему гену для

функционирования митохондрий, что способно в конечном счете приводить к патологическим состояниям различных органов и всего организма. Хочется отметить широкий спектр методов анализа и приборного оснащения, МРТ-томография, ПЦР, масс-спектрометрия, электронная и хемилюминесцентная спектроскопия, иммунохимические эксперименты, гистологический анализ и т.д.

Объем работы с экспериментальными животными очень значителен. Огромную практическую ценность представляют результаты сравнения различных методов редактирования генома.

Также следует отметить высокое качество иллюстраций.

При прочтении данной работы возникло несколько прежде всего дискуссионных вопросов и мелких замечаний:

1. Недостаточно отредактирован раздел ОБСУЖДЕНИЕ. Например, относительно рисунка 43 совершенно непонятно, в каком смысле идет на него ссылка при упоминании бетаина в тексте. Можно только догадаться из вышеприведенных данных.
2. Вывод 2 звучит достаточно банальным и самоочевидным, можно было бы и опустить его.
3. Яркое снижение уровня белка *Cyb5r3* при нокауте *Mtln* объяснено недостаточно подробно. Что может за этим стоять, и к чему приводить?
4. Не совсем понятно, как фильтрационная способность почек снизилась совершенно незначительно при столь ярких эффектах по кардиолипину и креатинкиназе.
5. Также без обсуждения упоминается, что «Однако не было продемонстрировано статистически значимого снижения электростимулированной мышечной силы», почему это расходится с измерениями силы захвата?
6. Данные Рис. 29 (Уровень метаболитов в сыворотке крови мышей по ЯМР) выглядят подозрительно – почему столь большие различия в

некоторых случаях между самцами и самками. Порой это ставит под сомнение сделанные выводы о изменении уровня, например, лизина и валина под влиянием нокаута.

7. Качество рисунка 23 оставляет желать лучшего, хотя основную свою функцию он выполнил.

Имеются неудачные выражения и опечатки:

1. «вакуолярная дегенерация проксимальных каналов почек». (общепринято – «канальцев»);
2. стр 147: «в актах каннибализма отмечены не были»;
3. стр 165 «долей миофибрилл с ядерной цепью в центре»;
4. «летальное нарушения функции почек» (Рисунок 36.).
5. «бурового жира» (стр 175)
6. «Мышцы расходятся в своих предпочтениях»
7. Метод «Реализация иммуноблотинга» - почему не просто иммуноблоттинг?
8. Секвенирование оказалось в разделе «анализ липидов».
9. «Микроептид»

Вместе с тем, указанные замечания 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 диссертационным работам. 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

им. 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:

доктор химических наук,
г.н.с. Лаборатории мембранных биоэнергетических систем
Отдела функционирования живых систем ИБХ РАН
Шахпаронов Михаил Иванович

27 ноября 2023 г

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

02.00.10 – Биоорганическая химия, химия природных и физиологически
активных веществ

Адрес места работы:

117997, РФ, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.16/10.,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова российской академии наук, Отдел функционирования живых
систем, лаборатория мембранных биоэнергетических систем
Тел.: +7(495)3306556; e-mail: shakhparonov@gmail.com__

Подпись сотрудника ИБХ РАН
М.И. Шахпаронова удостоверяю:
Ученый секретарь ИБХ РАН
д. ф.-м. наук

В.А. Олейников

27.11.2023