

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук МАСЛАКОВОЙ АЙТСАНЫ АЛЕКСЕЕВНЫ
на тему «Структурно-функциональный анализ транскриптов гена *SERPINA1*: поиск
альтернативных продуктов трансляции –изоформ и С-концевых пептидов альфа1-
антитрипсина человека» по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Актуальность темы диссертационной работы

Белок альфа1-антитрипсин (ААТ) является одним из важнейших ингибиторов протеаз в организме человека. Он участвует в регуляции воспалительных процессов, защищая ткани от повреждения ферментами, выделяемыми нейтрофилами и макрофагами. Белок ААТ также играет роль в иммунном ответе, ангиогенезе и апоптозе, причем некоторые функции выполняют короткие продукты протеолиза полноразмерного белка ААТ. Недостаток или дисфункция белка ААТ может приводить к развитию различных заболеваний, таких как эмфизема легких, хроническая обструктивная болезнь легких, цирроз печени и диабет. Полноразмерный белок ААТ является секретлируемым белком, который в основном экспрессируется гепатоцитами. Уровень экспрессии гена *SERPINA1*, кодирующего белок ААТ, является повышенным при многих злокачественных онкологических заболеваниях. Таким образом, не исключено, что ген *SERPINA1* может способствовать процессу канцерогенеза. Интересно, что экспрессия гена *SERPINA1* может повышаться в клетках опухолей различного тканевого происхождения, при этом белковый продукт гена *SERPINA1* может изменять локализацию на внутриклеточную. Вероятно, что в опухолевой прогрессии могут участвовать белковые продукты, транслирующиеся с альтернативных транскриптов гена *SERPINA1*, для которого характерно необычно высокое число вариантов транскрипции. Диссертация Айтсаны Алексеевны Маслаковой посвящена всестороннему исследованию спектра транскриптов гена *SERPINA1* в различных тканях человека, а также в различных культивируемых клеточных линиях опухолевого происхождения. Такое исследование представляет прежде всего фундаментальный научный интерес, демонстрируя функциональные возможности гена с очень высокой транскрипционной сложностью в конкретном клеточном контексте. Всесторонняя структурно-функциональная характеристика транскриптов гена *SERPINA1* дает необходимый фундамент для расшифровки роли этого гена в онкогенезе, что делает эту работу актуальной и интересной в прикладном значении.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

При структурно-функциональной характеристике спектра транскриптов гена *SERPINA1* Айтсана Алексеевна смогла убедительно показать, что в определенном клеточном контексте данный ген способен генерировать короткие транскрипты, способные к трансляции. Таким образом, Айтсана Алексеевна в своей работе смогла получить надежные свидетельства в пользу гипотезы, что короткие белковые изоформы белка ААТ могут возникать не только за счет протеолиза, но и за счет трансляции коротких альтернативных транскриптов гена *SERPINA1*. Для выявленных коротких белковых

изоформ, транслирующихся с коротких транскриптов гена *SERPINA1*, Айтсана Алексеевна смогла показать вероятную внутриклеточную локализацию, получив специфические антитела к целевым пептидам, а также создав генно-инженерными способами химерные белки, меченные флуоресцентным белком. Кроме этого, в ходе своей работы Айтсана Алексеевна получила ряд фактов, говорящих о возможности посттранскрипционного процессинга мРНК-предшественников с участием антисмысловых транскриптов гена *SERPINA1*. Все вышеописанные результаты являются оригинальными, обладают несомненной новизной, а также перспективой к дальнейшему углубленному изучению.

Содержание диссертационной работы и ее завершенность

Диссертационная работа Айтсаны Алексеевны имеет стандартную структуру и состоит из разделов: введение, обзор литературы, результаты и их обсуждение, заключение. Помимо этих традиционных разделов, Айтсаны Алексеевны включила в работу обширный раздел с приложениями, в которых размещены данные технических экспериментов, а также неотредактированные изображения блотов и гелей. В конце диссертации размещен лист с благодарностями диссертанта Университету, своим руководителям и коллегам. Диссертация занимает в целом 167 страниц, основной текст иллюстрирован 27 рисунками и содержит три таблицы. Раздел приложений содержит дополнительно 16 рисунков и три таблицы. Большинство рисунков в работе являются многопанельными. В диссертации необычно длинный список цитированной литературы из 457 источников.

Во введении Айтсана Алексеевна кратко обосновывает выбор темы исследования, внятно формулирует цель исследования и перечисляет, выполнение каких задач необходимо для достижения поставленной цели исследования. Во введении сформулированы положения, выносимые на защиту, отмечен личный вклад автора диссертационной работы, обозначены научно-практическая значимость и новизна диссертационной работы. Таким образом, введение содержит все необходимые начальные сведения по диссертационной работе.

В разделе «Обзор литературы» Айтсана Алексеевна изложила основные сведения по продуктам транскрипции и трансляции гена *SERPINA1*, а также описала известные функции полноразмерного белка ААТ и его коротких белковым производных. Айтсана Алексеевна проанализировала огромный массив источников литературы, при этом она продемонстрировала способность доступно и логично излагать сложный и богатый фактами материал. В целом, обзор содержит всю информацию, необходимую для дальнейшей интерпретации полученных результатов и позволяет сформировать представление о современном состоянии решаемых задач, и раскрывает текущие пробелы в современных знаниях, указывая на актуальность диссертационной работы.

Раздел «Материалы и методы исследований» содержит подробное и достаточное описание использованных методов. Спектр использованных методов широко варьирует — от методов клеточной биологии до биоинформатических методов, от классических до самых современных методов молекулярной биологии. Разнообразие методов и подходов

свидетельствует о высоком методической оснащенности диссертанта и большой гибкости в использовании методических подходов.

Раздел «Результаты исследования и их обсуждение» состоит из шести блоков, в первых трех Айтсана Алексеевна характеризует спектр транскриптов гена *SERPINA1*; один блок посвящен анализу данных, размещенных в общественных базах данных, с целью раскрыть возможный посттранскрипционный механизм формирования коротких транскриптов гена *SERPINA1*; два последних блока посвящены продуктам трансляции *SERPINA1*. В этом разделе полученные результаты сопровождаются их обсуждением с сопоставлением с предыдущими исследованиями по теме диссертационной работы. Проведенные эксперименты подробно и последовательно изложены, полученные данные исчерпывающе проиллюстрированы, часть результатов технического характера вынесены в раздел приложений.

Диссертация завершается Заключением, в котором Айтсана Алексеевна корректно резюмирует полученные в ходе исследования результаты, грамотно формулирует выводы, которые соответствуют цели и задачам исследования.

Теоретическая и научно-практическая значимость полученных результатов

Диссертационная работа имеет фундаментальное научное значение, в ней раскрывается функциональный потенциал гена *SERPINA1*, который относится к генам с исключительно высокой транскрипционной сложностью. Айтсана Алексеевна показала, что разнообразие белковых продуктов гена *SERPINA1* формируется не только за счет протеолиза полноразмерного белка ААТ, но и за счет формирования длинных и коротких альтернативных транскриптов, а также альтернативных сайтов инициации трансляции. Проведенный структурно-функциональный анализ транскрипционных и трансляционных продуктов гена *SERPINA1* заложил отличный фундамент для дальнейшего изучения роли этого гена в канцерогенезе и других патологиях.

Степень достоверности результатов исследований, положений и заключения

Большинство выводов диссертации верифицированы несколькими экспериментами с различной методической основой, что убеждает в их достоверности. Подавляющая часть полученных результатов опубликованы в рецензируемых научных журналах, в том числе и с высоким импакт-фактором, относящимся к первому квартилю в области «Биохимия». По материалам работы опубликовано 5 статей, в том числе и 4 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Web of Science. Результаты диссертационной работы не менее 9 раз прошли апробацию на международных и российских конференциях.

Достоинства и недостатки работы

В диссертационной работе Айтсаны Алексеевны Маслаковой представлен большой объем качественных экспериментальных данных, полученных с помощью различных молекулярно-биологических и биоинформатических методов. Полученные экспериментальные данные позволили достичь поставленной цели диссертационной работы, при этом данные прекрасно описаны, иллюстрированы и максимально корректно

интерпретированы. Экспериментальную часть предваряет исчерпывающий обзор литературы, результаты экспериментов сопровождаются высококвалифицированным всесторонним обсуждением.

Замечаний к диссертационной работе немного, и они не носят принципиального характера:

- Литературный обзор содержит Таблицу 2.2, в которой собрана информация по публикациям, посвященным С-концевым пептидам, получаемых из белка ААТ. Эта таблица выглядит как некий служебный материал, сделанный для собственного использования, а не для публикации. Таблица не очень понятна, она громоздкая, к тому же содержит обрывки нерелевантных фраз.
- Непонятно, зачем автор использует при культивировании клеточных культур противогрибковый агент амфотерицин, являющийся лекарственным средством с большим числом побочных реакций и вполне вероятно являющийся токсичным для клеток.
- Для эксперимента с использованием количественной ОТ-ПЦР, в котором оценивалось количества транскриптов, полиаденилированных по разным позициям, не указаны последовательности праймеров (Рис. 4.6.В), а схема расположения праймеров на Рис. 4.6.В не совпадает с указанной на Рис. 2П приложения.
- Утверждение о консервативности альтернативного сайта инициации в разделе 4.5.3 кажется слабо обоснованным. Альтернативный сайт инициации находится в белоккодирующей области консервативного гена, и выявить на этом фоне дополнительную консервативность, связанную с альтернативным стартом транскрипции, простым выравниванием дюжины шестибуквенных последовательностей млекопитающих кажется нереальным.
- В тексте встречаются опечатки, есть незавершенные фразы или фразы с потерей слов. В тексте постоянно повторяется однотипная пунктуационная ошибка с постановкой неправомерного тире. Чтению мешает то, что автор все время использует дефис вместо знака тире.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключении необходимо отметить, что диссертационная работа Айтсаны Алексеевны Маслаковой характеризуется высоким методическим уровнем, большим объемом проделанной экспериментальной работы и квалифицированным изложением результатов, что позволяет положительно ее оценить. Некорректных заимствований в текстах диссертации и автореферата не выявлено; цитирование оформлено корректно; заимствованного материала, использованного в диссертации без ссылки на автора либо источник заимствования, не обнаружено. Опубликованные научные труды отражают содержание диссертационной работы; положения, выносимые на защиту, также опубликованы. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями и отражает основное содержание диссертационной работы.

Высказанные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы Айтсаны Алексеевны Маслаковой как квалификационного

научного труда и не ставят под сомнение обоснованность ее основных положений и выводов.

Диссертация Айтсаны Алексеевны Маслаковой отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к кандидатским диссертациям. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.3 (03.01.03) – «Молекулярная биология» (по биологическим наукам, 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 приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова. Таким образом, соискатель Айтсана Алексеевна Маслакова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 (03.01.03) – «Молекулярная биология».

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук
Заведующая лабораторией клеточной биологии
Федеральный научно-клинический центр физико-химической
медицины имени академика Ю. М. Лопухина ФМБА России

Богомазова Александра Никитична

Контактные данные:

Тел. +7(903)128-1163

E-mail: abogomazova@rcpcm.org

Адрес места работы:

119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства».

Подпись А. Н. Богомазовой удостоверяю

Ученый секретарь ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА России
к.б.н. О.П. Лихнова

31 октября 2023 г.

