

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Первушина Дмитрия Давидовича
«Альтернативный сплайсинг и дальние взаимодействия
в структуре эукариотических РНК», представленной на соискание ученой степени доктора
химических наук по специальности «1.5.3 Молекулярная биология»

Молекулы РНК и их взаимодействия с ДНК, белками и между собой играют ключевую роль в регуляции клеточных процессов как у про-, так и у эукариот. Некодирующие РНК могут блокировать (или, напротив, разрешать) транскрипцию и трансляцию, препятствовать гидролизу других РНК, а также выполнять сигнальную функцию. Антисмысловые РНК, комплементарно связывающиеся с регуляторными областями генов, могут быть использованы в клинической практике для направленной модуляции их экспрессии. Именно такой механизм лежит в основе действия препарата «Спинраза», сдерживающего развитие СМА – антисмысловая РНК взаимодействует с областью связывания интронного сайленсера, блокируя его посадку и приводя к синтезу «запасной» мРНК с гена *SMN2*. Это один из экспериментально подтвержденных примеров влияния РНК на альтернативный сплайсинг, которых в последнее время появилось достаточно много. Взаимодействие РНК с мишенями во многом определяется их пространственной структурой, поэтому необходимо уметь хорошо их предсказывать. В настоящее время почти нет алгоритмов, которые бы учитывали дальнедействующие модули при предсказании структур РНК, как и надежных экспериментальных методов их разрешения. В соответствии с этим, работа Дмитрия Давидовича Первушина, посвященная разработке методов, сочетающих термодинамику и филогенетику для предсказания дальних взаимодействий в структуре РНК, и экспериментальной валидации результатов, является, несомненно, актуальной.

Для достижения поставленной цели Дмитрием Давидовичем был применен комплексный подход, поэтому при выполнении работы были использованы как вычислительные методы (термодинамическое моделирование структуры РНК, выравнивание последовательностей, построение хеш-таблиц, анализ компенсаторных мутаций, анализ данных NGS), так и самые современные методы экспериментальной молекулярной биологии (секвенирование транскриптомов, сайт-направленный мутагенез, ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе, в реальном времени, искусственная активация и подавление экспрессии генов с помощью антисмысловых транскриптов). В таком всестороннем подходе, а также в движении «от общего к частному», от теории к конкретным примерам, на мой взгляд, состоит главная ценность данной работы.

К основным результатам работы Дмитрия Давидовича относится наблюдение о том, что комплементарные участки, часто расположенные в интронах, обогащены сайтами редактирования РНК и местами связывания белков и могут подавлять использование

криптических сайтов сплайсинга и выпетливаемых экзонов. Очень интересный эксперимент был проведен для изучения ответа транскриптома клеточной линии карциномы легкого A549 на замедление элонгации транскрипции с помощью альфа-аманитина. Было показано, что при замедлении РНК-полимеразы II экзоны, следующие на короткими интронами, синтезируются активнее, а следующие за длинными экзонами – слабее. Кроме того, был сделан вывод о том, замедление элонгации дает больше времени на сворачивание структуры РНК в интроне, что также влияет на включение следующего за ним экзона. При исследовании возможности регуляции экспрессии генов непродуктивным сплайсингом и структурой РНК было показано, что такой сплайсинг может регулироваться РНК-связывающими белками и дальними взаимодействиями в структуре РНК.

Хочется отдельно отметить высокий уровень публикаций соискателя, что подтверждает очень высокий уровень проводимых исследований и их признания мировым научным сообществом. В качестве небольшого замечания-пожелания можно отметить следующее – хотелось бы иметь чуть больше структурированной информации о функциях белковых продуктов исследуемых генов в организме и последствиях структурных перестроек. Но это замечание несколько не снижает ценности представленной работы и ни в коей мере не влияет на прекрасное впечатление от нее.

Таким образом, диссертация Первушина Дмитрия Давидовича «Альтернативный сплайсинг и дальние взаимодействия в структуре эукариотических РНК», представленная на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора химических наук, и критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени.

к.б.н. (03.01.03 «Молекулярная биология»)
в.н.с. УНЦ «Биоинформатика»
Институт проблем передачи информации РАН
им. А.А. Харкевича
127051, Москва, Большой Каретный пер 19с1
e-mail: tutukina@iitp.ru

Мария Николаевна Тутукина