

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Зверевой Марии Эмильевны «Теломераза: механизмы функционирования и регуляции», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальностям: 03.01.03 – молекулярная биология и 02.00.10 – биоорганическая химия.

Исследование, проведенное автором, направлено на изучение одного из наиболее интригующих в последние десятилетия процессов, происходящих в клетках разнообразных организмов – особенностям функционирования теломеразы. Со времени обнаружения самого белка (Greider С.W., 1985) и после первично выдвинутых, во многом неоправданных, надежд на быстрый успех в терапии злокачественных новообразований, наступило время детального и фундаментального анализа механизма проявления ферментативной активности этой обратной транскриптазы при выполнении ею основной функции – удлинению хромосомальной ДНК на участках теломер. При этом практически сразу было продемонстрировано, что недостаточная активность теломеразы неизбежно ведет к резкому ограничению числа делений (ранней гибели) эукариотической клетки, а ее повышенная активность во многом определяет поддержание неконтролируемого деления клетки, переводя ее в статус онкологической.

Следует отметить, что к началу рассматриваемой работы, исследования, которое, судя по опубликованным научным трудам, заняло у автора около 15 лет, не было достаточно полного понимания как механизма функционирования, так и регуляции активности теломеразы на молекулярном уровне. Существенно были ограничены также знания по сравнительному анализу свойств теломераз из различных организмов, что во многом не позволяло установить общие закономерности в проявлении как прямой, так и возможной альтернативной активности этого фермента. Именно на выяснение молекулярно-биологических основ функционирования теломераз во многом и направлено рассматриваемое исследование Зверевой М.Э., основные результаты которых и суммированы в представленной работе.

Данное научное направление несет все признаки фундаментальности, актуальности, практической значимости и раскрывает детали функционирования одного из важнейших для жизнедеятельности клеток комплекса белок-нуклеиновая кислота. Следует отметить, что соискатель ученой степени четко сформулировал как задачу своего исследования, так и подходы к ее решению. Во многом это было предопределено, в том числе, и предыдущим богатым опытом работы с теломеразой в лаборатории, в стенах которой выполнялись основные эксперименты.

Избрав в качестве модельных белков теломеразы из *Saccharomyces cerevisiae* и *Hansenula polymorpha* Зверева М.Э обосновала адекватность этих модельных белков по отношению к аналогичному белку человека. Проведенные с использованием современных методов исследования белок-РНК комплексов, включающих в себя как молекулярно-биологические методики (характеристика молекулярного механизма регуляции длины теломер в клетках дрожжей *in vivo*, который закодирован непосредственно в структуре самой теломеразной РНК и т.д.), так и присущие биоорганической химии (характеристика биохимических свойств компонентов и полного комплекса дрожжевой теломеразы, разработка подходов к ингибированию активности теломеразы человека *in vitro*) позволили Зверевой М.Э. детально выявить и сформулировать особенности молекулярного механизма проявления теломеразой ферментативной активности. Следует отметить, что использование Зверевой М.Э. именно этих методов позволили не только провести рассматриваемое полномасштабное исследование, но и в полной мере оправдывают защиту диссертационной работы сразу по двум специальностям: 03.01.03 – молекулярная биология и 02.00.10 – биоорганическая химия.

В своей работе Зверева М.Э. убедительно показала существование природного механизма ограничения длины теломер, в основе которого лежит структура теломеразной РНК (появление дополнительного нуклеотида Т на 3'-конце вновь синтезированного повтора). Впервые определена уникальная роль белкового компонента теломеразного комплекса Est3 из *S. cerevisiae*, заключающаяся в его существенном влиянии на стабильность гибридного ДНК/РНК – дуплекса. Показано, что этот компонент (Est3) комплекса способен к димеризации и гидролизу GTP *in vitro*. Экспериментально выявлено, что эти свойства не являются присущими для Est3 из *H. polymorpha*. Основываясь на полученных результатах, диссертант предложила универсальный подход для исследования процесса нарушения сборки комплексов РНК-белок, основанный на оригинальных олигонуклеотидных дуплексах, соединенных неприродными линкерами ненуклеотидной природы. Этот подход позволил автору однозначно утверждать, что *in vitro* в активном теломеразном комплексе человека теломеразная РНК существует в виде димера. Более того, использование именно таких олигонуклеотидных конструкций позволило ингибировать функционирование этого теломеразного комплекса. Полученные Зверевой М.Э. на предыдущем этапе исследования результаты нашли свое логичное продолжение в попытках найти эффективный способ ингибирования теломеразы. В результате моделирования и экспериментального изучения свойств ряда

соединений автор предложил для этой цели новый класс соединений на основе медных комплексов тиогидантоинов, имитирующих пространственное расположение двух нуклеотидов теломерного повтора человека. С использованием этого соединения впервые показано, что оно не только обладает способностью ингибировать теломеразу *in vitro*, но и расщеплять саму ДНК. Достаточно перспективными являются и разработанные автором ингибиторы на основе олигонуклеотидов, формирующих разветвленные конструкции, выявляющие хороший потенциал для проведения противоопухолевой терапии, основанной на ингибировании теломеразы. Важно отметить, что подобранные в этом случае структуры нуклеиновых кислот не содержат теломерной последовательности, что может быть решающим для подавления неспецифического характера воздействия такого рода соединений. В определенной мере это повышает потенциал их дальнейшего применения. Безусловно, полученные в работе соединения предстоит еще дополнительно испытать в системе *in vivo* качестве противоопухолевых агентов, ингибирующих активность непосредственно теломеразного комплекса, а главное – разработать систему селективной доставки этих соединений именно в трансформированные (раковые) клетки для минимального поражения окружающих злокачественную опухоль нормальных клеток. Искренне хочется пожелать автору успехов при построении исследований по этому направлению.


Анализ научных публикаций Зверевой М.Э. по теме исследования показывает, что полученные в ходе исследования результаты достаточно полно опубликованы в рейтинговых рецензируемых научных изданиях и, тем самым, можно утверждать, что они в полной мере представлены вниманию широкой научной общественности.

Исходя из анализа содержания автореферата и публикаций по теме работы, можно сделать вывод, что рассматриваемая работа представляет собой логично построенное широкомасштабное исследование, направленное на изучение функционирования теломеразы. Материалы диссертационной работы в полной мере обладают новизной, практической значимостью и представляют значительный интерес для широкого круга исследователей. Особо обращают на себя внимание разработанные в ходе проведения исследования подходы к ингибированию теломеразы, основная идеология которых может найти успешное применение и в изучении других комплексов белков с нуклеиновыми кислотами.

Судя по данным, приведенным в автореферате, работа Зверевой Марии Эмильевны «Теломераза: механизмы функционирования и регуляции» обладает целостностью, является научным исследованием, значимым для молекулярной биологии и биоорганической химии и удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора химических наук по специальностям 03.01.03 – молекулярная биология, 02.00.10 – биоорганическая химия.

Автор рассматриваемой диссертационной работы – Зверева Мария Эмильевна – безусловно заслуживает присвоения ученой степени доктора химических наук по вышеуказанным специальностям.

Главный научный сотрудник
ФИЦ Биотехнологии РАН,
д.б.н., профессор



(Вейко В.П.)

Подпись Вейко В.П.

Заверяю

Ученый секретарь

ФИЦ Биотехнологии РАН

к.б.н.



(Орловский А.Ф.)

_____ апреля 2018г.

119071, г.Москва, Ленинский

проспект, 33, стр.2

р.тел.: (495) 660-34-30, доб.425

e-mail: vladveiko@yahoo.com