

Заключение диссертационного совета МГУ.02.03
по диссертации на соискание учёной степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «22» мая 2018 г. № 6

О присуждении Петровой Ольге Алексеевне, гражданство РФ, учёной степени кандидата химических наук.

Диссертация «Структурные исследования компонентов теломеразного комплекса дрожжей *Hansenula polymorpha*» по специальностям 02.00.10 – биоорганическая химия, 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите диссертационным советом 9 апреля 2018г., протокол № 4.

Соискатель Петрова Ольга Алексеевна, 1987 года рождения, в 2009 году соискатель окончила Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

Соискатель работает младшим научным сотрудником Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова.

Диссертация выполнена на кафедре химии природных соединений химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова и в отделе структуры и функций РНК Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова.

Научные руководители – доктор химических наук, профессор, академик РАН Донцова Ольга Анатольевна, Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова

- кандидат химических наук, доцент, Зверева Мария Эмильевна, Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова.

Официальные оппоненты:

Смирнов Иван Витальевич, доктор химических наук, Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, группа комбинаторных методов конструирования биокатализаторов, главный научный сотрудник.

Демидкина Татьяна Викторовна, доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, заведующая лабораторией химических основ биокатализа.

Усачев Константин Сергеевич, кандидат физико-математических наук, Институт фундаментальной медицины и биологии Казанский (Приволжский) федеральный университет, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории Структурная Биология

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 5 работ, из них 5 статей, опубликованных, в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальностям 02.00.10 – биоорганическая химия, 03.01.03 – молекулярная биология

1. Petrova O.A., Mantsyzov A.B., Rodina E.V., Efimov S.V., Hackenberg C., Hakanpää J., Klochkov V.V., Lebedev A.A., Chugunova A.A., Malyavko A.N., Zatsepin T.S., Mishin A.V., Zvereva M.I., Lamzin V.S., Dontsova O.A., Polshakov V.I., Structure and function of the N-terminal domain of the yeast telomerase reverse transcriptase. // *Nucleic Acids Research*. – 2018. – V. 46. – № 3. – P. 1525-1540.

2. Mariasina S.S., Efimov S.V., Petrova O.A., Rodina E.V., Malyavko A.N., Zvereva M.I., Klochkov V.V., Dontsova O.A., Polshakov V.I., Chemical shift assignments and the secondary structure of the Est3 telomerase subunit in the yeast *Hansenula polymorpha*. // *Biomolecular NMR Assignments*. – 2017. – V. 12. – P. 1-6.

3. Polshakov V.I., Petrova O.A., Parfenova Yu Yu, Efimov S.V., Klochkov V.V., Zvereva M.I., Dontsova O.A. NMR assignments of the N-terminal domain of *Ogataea polymorpha* telomerase reverse transcriptase. // *Biomolecular NMR Assignments*. – 2016. – V. 10. – № 1. – P. 183-187.

4. Петрова О.А., Смекалова Е.М., Зверева М.Э., Ламзин В., Донцова О.А. Идентификация дополнительного теломеразного компонента дрожжей *H. polymorpha* – шаг на пути понимания работы комплекса на атомарном уровне. // *Доклады Академии наук*. – 2014. – V. 455. – № 3. – P. 1-6.

5. Зверева М.Э., Петрова О.А., Парфенова Ю.В., Смекалова Е.М., Малявко А.Н., Родина Е.В., Каллио И., Хакенберг К., Вигенс Т., Ламзин В.С., Донцова О.А. На пути к атомной структуре компонентов теломеразного комплекса с целью создания регуляторов контроля развития раковых клеток // *Вестник РФФИ*. – 2013. – V. 4. – № 80. – P. 33-37.

На диссертацию и автореферат поступило 2 отзыва. Отзыв от Соколова Святослава Сергеевича, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории биологического действия мембранофильных катионов Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ М.В.Ломоносова, отзыв положительный, замечаний не содержит. И отзыв от Митькевича Владимира Александровича, кандидата химических наук, ведущего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, отзыв положительный, замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов обосновывался тем, что официальные

оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами в области молекулярной биологии и биоорганической химии, а их работы опубликованы в высокорейтинговых журналах.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание учёной степени кандидата химических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований были решены задачи, имеющие значение для развития биоорганической химии и молекулярной биологии.

В диссертационной работе получены данные о генах, кодирующих дополнительные белковые компоненты теломеразы дрожжей *H. polymorpha* Est1 и Est3, идентифицированных на основании биоинформатического анализа и экспериментального подтверждения *in vivo*. Созданы конструкции для получения рекомбинантных белков hpEst1 и hpEst3. Для регуляторного белка hpEst3 получены замещённые производные, содержащие ^{15}N или $^{15}\text{N}^{13}\text{C}$. Совместно с Лабораторией магнитной томографии и спектроскопии, Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова (Польшаков В.И.) сняты спектры ЯМР и сделано отнесение сигналов, что позволило решить структуру этого белка в растворе. Полученная структура hpEst3 обладала высокой степенью структурной гомологии с ранее полученной структурой Est3 *S. cerevisiae* (scEst3) и теломерных белков TPP1 человека и TEBP β реснитчатых *O. nova*, что может указывать на их эволюционную связь. Таким образом, полученная структура hpEst3 дала новую информацию об особенностях структуры Est3 в дрожжах, позволила выявить элементы, консервативные именно для дрожжей, а также элементы, консервативные для всех видов, включая человека.

В данной работе проведён поиск функциональных доменов hpTERT, подходящих для структурных исследований. В результате определен и охарактеризован физико-химическими методами стабильный N-концевой домен hpTERT. Представлены структуры TEN-домена hpTERT: в кристалле, полученная методом рентгеновской кристаллографии, и в растворе, полученная с использованием спектроскопии ЯМР. Представленное структурное сравнение, вместе с анализом множественных выравниваний последовательностей на основе полученной структуры, позволило определить эволюционно консервативные структурные элементы, которые могут быть важны для функции TEN домена. Основываясь на локальных структурных различиях между проанализированными структурами, можно считать, что hpTEN превосходно подходит для моделирования TEN домена человека.

Охарактеризовано взаимодействие hpTEN с нуклеиновыми кислотами, моделирующими участки теломеразной РНК, теломер и их комплекса. На основании полученных данных предложена модель hpTERT. Согласно этой модели, hpTEN может

ограничивать размер длины гетеродуплекса между матричным участком ТЕР и теломерной ДНК при синтезе повтора, что облегчает разделение цепей, необходимое для транслокации РНК и процессивности при добавлении теломерных повторов. hrTEN представляет собой стерический барьер аналогично РНК полимеразе II и бактериальным РНК полимеразам.

Теоретические предположения автора базируются на известных данных и согласуются с опубликованными экспериментальными данными. Идея базируется на обобщении передового опыта. Установлено, что все результаты автора качественно совпадают с результатами из независимых источников.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку.

Личный вклад соискателя состоит в решающей роли в выборе направлений исследований, разработке экспериментальных подходов и обобщении полученных результатов. В работах, выполненных в соавторстве, личный вклад автора заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования – от постановки задачи, проведении экспериментов до обсуждения и литературного оформления полученных результатов. Диссертация охватывает основные вопросы, поставленные научные задачи и соответствуют критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, основной идейной линией, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным п. 2.1 Положения о присуждении ученых степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова.

На заседании 22 мая 2018 года диссертационный совет принял решение присудить Петровой Ольге Алексеевна учёную степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук, участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 16, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель диссертационного совета
Богданов Алексей Алексеевич

Учёный секретарь диссертационного совета
Смирнова Инна Григорьевна

