

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Рубцовой Марии Петровны «Молекулярные механизмы биогенеза и функционирования теломеразной РНК человека», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальностям 02.00.10 – биоорганическая химия (химические науки) и 03.01.03 – молекулярная биология (химические науки).

Работа Рубцовой М.П. посвящена исследованию функционирования теломеразной РНК человека как в составе теломеразного комплекса, так и в качестве самостоятельного компонента клетки. Теломераза является привлекательным объектом как фундаментальных, так и ориентированных исследований в связи с участием этой системы в процессах онкологической трансформации и регенерации ткани. Контролируемая регуляция функционирования теломеразы может позволить решить проблемы терапии онкологических заболеваний, а также увеличения продолжительности жизни. Таким образом, актуальность исследования функционирования компонентов теломеразы не вызывает сомнений.

В диссертационной работе М.П. Рубцовой исследованы несколько аспектов функционирования теломеразы: взаимодействие фермента с теломерами, сборка активного фермента, биогенез теломеразной РНК и ее альтернативные функции. Автору впервые удалось продемонстрировать, что репликативный белок А (RPA) модулирует активность теломеразы человека *in vitro*. На основании полученных данных предложена модель, согласно которой RPA способствует взаимодействию теломеразы с субстратом, стабилизируя одноцепочечное состояние 3'-выступающего участка теломер. Было установлено, что известная способность RPA к кооперативному связыванию одноцепочечной ДНК при избытке белка приводит к ингибированию теломеразной активности.

Рубцова М.П. предположила, что стабилизация одной из конформаций теломеразной РНК человека, служащей структурным каркасом фермента, позволит ингибировать работу теломеразы. Для проверки этой гипотезы были определены доступные для взаимодействия участки теломеразной РНК человека. Действительно, блокирование конформационных переходов при помощи «химерных олигонуклеотидов», состоящих из двух комплементарных разным участкам теломеразной РНК «плеч», соединенных 2,3-пропандиоловым линкером, нарушало процесс сборки активного фермента и приводило к эффективному ингибированию теломеразной активности.

Предложенный новый подход ингибирования активности теломеразы «химерными олигонуклеотидами» оказался более эффективным по сравнению с ингибированием одиночными олигонуклеотидами, взаимодействующими с активным центром теломеразы и матричным участком теломеразной РНК соответственно.

Большая часть работы Рубцовой М.П. посвящена исследованию механизма экспрессии гена теломеразной РНК человека и ее альтернативных функций. Созданная репортерная система позволила установить, что транскрипцию гена теломеразной РНК человека регулирует мультисубъединичный комплекс «Интегратор». Показано, что терминация транскрипции теломеразной РНК человека зависит от промотора – корректная терминация и последующий процессинг теломеразной РНК возможны только в случае промоторов, регулируемых «Интегратором». Полученные результаты подтверждены с использованием различных подходов, а участие Интегратора в процессинге теломеразной РНК человека доказано при помощи ингибирования экспрессии генов методом РНК-интерференции.

Длинный транскрипт, появляющийся в клетках при нарушении процессинга теломеразной РНК человека, содержит открытую рамку считывания, функциональность которой была доказана в данном исследовании. Белок hTERP, кодируемый теломеразной РНК человека, был идентифицирован при помощи масс-спектрометрии, а также визуализирован методами иммуофлуоресцентной микроскопии и Вестерн-блоттинга. В данной работе достоверно доказан кодирующий потенциал теломеразной РНК человека, продемонстрированы защитные свойства белка hTERP в условиях индукции апоптоза, а также его участие в формировании аутофагосом.

В качестве замечания к оформлению автореферата следует отметить слишком тонкие линии, мелкие детали и надписи на некоторых рисунках (особенно это относится к рисункам 18, 19 и 22-26), что значительно затрудняет восприятие представленных на них данных. Высказанное замечание не умаляет достоинств большой и интересной работы, проделанной автором. Следует отметить, что настоящая работа выполнена на высоком профессиональном уровне, научная новизна, актуальность и основные выводы работы не вызывают сомнений. Работа Рубцовой М.П. носит законченный характер и вносит значительный вклад в понимание молекулярных механизмов функционирования теломеразного комплекса человека и их связи с онкологической трансформацией клеток.

Диссертационная работа Рубцовой М.П. удовлетворяет критериям, установленным в Положении о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а ее автор заслуживает присуждения ученой

