

## ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Алексеевой Елены Анатольевны

«Роль гена *HIMI* в регуляции мутационного процесса у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*»

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по

специальности 1.5.7 - генетика

**Актуальность темы исследования, ее новизна и значимость.** Одним из важнейших процессов, происходящих в клетке, является процесс репарации ДНК, обеспечивающий целостность генома. Системы репарации важны для восстановления нативной структуры ДНК после возникновения в ней повреждений. Повреждения ДНК вызываются различными ДНК-повреждающими агентами, которые могут быть как эндогенными (продукты клеточного метаболизма), так и экзогенными (УФ-,  $\gamma$ -излучение; азотистая кислота, метилметансульфонат (ММС), гидроксимочевина (ГМ) и др.). Нарушение работы систем репарации, в частности, связано с рядом наследственных заболеваний человека. Системы репарации тесно связаны с возникновением спонтанных и индуцированных мутаций у всех организмов. Известно, что системы репарации у дрожжей и высших млекопитающих, подобны. Дрожжи-сахаромицеты благодаря удобству и простоте работы с ними, являются важным модельным объектом для изучения процессов репарации ДНК и генов, контролирующих различные этапы этих процессов у эукариотических организмов.

Работа Алексеевой Елены Анатольевны посвящена актуальной проблеме современной генетики, а именно, изучению сохранения целостности генома. Значимость работы не вызывает сомнения, поскольку полученные результаты важны для глубокого понимания фундаментальных механизмов изменчивости, а также для практических целей медицинской генетики, в частности, для выявления генетических причин наследственных, онкологических и других заболеваний человека. Полученные результаты характеризуются высокой степенью новизны, а их обоснованность подтверждена экспериментальными данными.

**Апробация работы.** Материалы диссертации опубликованы в трех статьях, в которых Алексеева Е.А. является первым автором, что показывает основной вклад автора в представленную работу. Помимо этого Алексеева Е.А. представила работу на тринадцати международных и российских конференциях.

**Структура диссертации.** Диссертация имеет стандартное строение и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Выводы», «список принятых сокращений», «Список литературы», включающего 110 источников, раздела «Приложение1» и листа благодарностей. Текст

изложен на 111 страницах, включает 36 рисунков и 3 таблицы. Материал изложен ясно, диссертация структурирована и хорошо оформлена.

В обзоре литературы рассматриваются основные работы, посвященные процессам репарации ДНК у дрожжей-сахаромицетов. Особое внимание автор уделяет процессу пострепликативной репарации, так как на ее понимании строится все дальнейшее исследование.

«Материалы и методы» содержат подробное описание генетических и молекулярно-генетических методов, использованных автором диссертации. Они современны, надёжны и позволили получить оригинальные результаты.

Экспериментальная часть логически построена следующим образом. Сначала Алексеева Е.А. с помощью генетического анализа показывает, что ген *HIMI* имеет отношение к безошибочной ветви пострепликативной репарации, путем инактивации генов, продукты которых работают на начальных этапах инициации безошибочной ветви пострепликативной репарации. Далее Алексеева Е.А. с помощью того же генетического анализа, показывает, что продукт гена *HIMI* влияет на стабильность D-петли, путем регуляции скорости синтеза ДНК в D-петле.

В следующей серии экспериментов Алексеева Е.А. показывает, что мутаторный фенотип мутации *him1Δ* связан с активностью полимеразы η, с помощью того же генетического анализа, а также при изучении спектра мутаций в локусе устойчивости к канаванину у мутанта *him1Δ* и мутанта у которого инактивирован ген *RAD30*, кодирующий полимеразу η.

В заключительных экспериментах Алексеева Е.А. показывает связь мутации *him1Δ* с чекпойнтом и изменением уровня дНТФ в клетке. Проведя генетический анализ, а также показав при помощи метода полимеразной цепной реакции в реальном времени изменение уровня экспрессии гена *RNR3* в штамме дикого тика и штамме с мутацией *him1Δ*, до и после облучения их УФ-светом.

Завершает диссертацию глава «Обсуждения». В ней обобщенным итогом всего исследования представлена схема роль гена *HIMI* в регуляции мутационного процесса у дрожжей *S. cerevisiae*.

**Достоверность полученных результатов** не вызывает сомнений, поскольку они подкреплены соответствующим статистическим анализом. Все выводы обоснованы и подкреплены данными, полученными с помощью различных методов.

#### **Замечания.**

В работе принципиальных недостатков не обнаружено. Есть лишь некоторые технические замечания.

1. «*Saccharomyces cerevisiae*» полностью в научном тексте принято писать только один раз (первый), потом *S. cerevisiae*. Так со всеми родовыми названиями. Исключение — список литературы.
2. В табл 1 хорошо бы указать источник штамма или «настоящая работа»..
3. На свои работы в тексте диссертации ссылаться не принято.
4. В описании штамма значёк  $\Delta$  следует ставить перед делетированным геном, а не после него
5. «Чекпоинтная активация» - совсем уж неустоявшийся в русском языке англицизм. Рибинуклеотидредуктазного – рибОнуклеотидредуктазного и т.д.

**Заключение.** Диссертационная работа Алексеевой Елены Анатольевны на тему «Роль гена *HIMI* в регуляции мутационного процесса у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*», выполненная под руководством д.б.н. Владимира Геннадиевича Королева, является завершённой научной работой,

По актуальности, научной новизне, объёму проведенных исследований и значению данных работа Алексеевой Е.А. полностью соответствует требованиям ВАК и Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «Положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Алексеева Елена Анатольевна, заслуживает искомой степени.

27.04.2023

Манухов Илья Владимирович

доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики, заместитель заведующего кафедры биофизики ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», д.б.н.

141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9.

Юридический адрес: 117303, г. Москва, ул. Керченская, д. 1 «А», корп. 1.

Телефон: +7(905)562-29-24; +7(495)408-45-54

E-mail: manukhovi@mail.ru, info@phystech.edu, [info@mipt.ru](mailto:info@mipt.ru), сайт: [www.mipt.ru](http://www.mipt.ru)

Подпись д.б.н. Манухова И. В. заверяю

Ученый секретарь МФТИ

Кандидат физико-математических наук, доцент



Е. Г. Евсеев