



ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИНСТИТУТ ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
JOINT INSTITUTE FOR NUCLEAR RESEARCH

ул. Жолио-Кюри 6, г. Дубна, Московская область, Россия, 141980 6, Joliot-Curie St, Dubna, Moscow Region, Russia, 141980
Tel.: +7 (496) 216-50-59 Fax: +7 (495) 632-78-80 AT: 205493 WOLNA RU E-mail: post@jinr.ru http://www.jinr.ru

№ _____
на № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ОИЯИ
Г. В. Трубников



31.03.2023

ОТЗЫВ

ведущей организации Лаборатории радиационной биологии Объединенного института ядерных исследований на кандидатскую диссертацию **Алексеевой Елены Анатольевны** «Роль гена *HIM1* 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.

Более 30 лет назад в Отделении молекулярной и радиационной биофизики Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова В. Г. Королевым с сотрудниками была получена коллекция мутантов, отличавшихся повышенной частотой как индуцированного (*him*-мутации), так и спонтанного (*hsm*-мутации) мутагенеза. Часть мутаций была охарактеризована и картирована. Генетический анализ позволил разделить обе группы мутантов на несколько эпистатических групп генов, одной из которых является - *HSM3*, к ней относятся мутанты по генам *HSM2/HMO1*, *HSM3*, *HSM6/PSY4* и *HIM1*. Для мутантов по генам эпистатической группы *HSM3* характерна повышенная частота спонтанного и индуцированного мутагенеза и низкая чувствительность к летальному действию повреждающих ДНК агентов. Все мутанты по данным генам влияют на частоту индуцированной митотической рекомбинации, причем частота кроссинговера у этих мутантов значительно уменьшена, а частота генной конверсии увеличена. Показано, что ген *HSM3* участвует в стабилизации D-петли, физически взаимодействует с гистонацетилтрансферазным комплексом NuB4, и за *hsm3*-мутагенез ответственна ошибочная полимераза Polη (*Evstyukhina et al., Genes 2021*). Другой ген этой эпистатической группы *HIM1* малоизучен. Функция белка Him1p неизвестна и в *Saccharomyces genome database (SGB)* нет информации о физическом взаимодействии этого белка с другими дрожжевыми белками. Ген уникален и встречается лишь у близкородственных видов дрожжей, и у него нет гомологов среди генов бактерий, растений и млекопитающих. Однако у других организмов может существовать функциональный гомолог, негомологичный белок, выполняющий ту же функцию в регуляции мутационного процесса. Поэтому изучение молекулярного

механизма участия гена *HIM1* в регуляции мутагенеза и рекомбинации представляет интерес.

Основные научные результаты и их новизна.

Целью данной работы был генетический анализ взаимодействия изучаемого гена с генами, контролирующими различные этапы репарации и чекпойнт-ответа. Алексеева Е. А. совместно с сотрудниками Отдела молекулярной и радиационной биофизики НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ проделала большой объем работы по получению двойных мутантов, несущих как мутацию *him1Δ*, так и мутации, нарушающие: первые этапы безошибочной ветви пострепликативной репарации (*mms2Δ*, *xrs2Δ*), деградацию D-петель (*mph1Δ*, *srs2Δ*, *mms4Δ*), скорость синтеза ДНК (*sml1Δ*, *dun1Δ*, *pph3Δ*, *psy4Δ*, *rad53+HA-F*) и активность ДНК-полимеразы η (*rad30Δ*). В качестве параметра, по которому шла оценка типа взаимодействия, был выбран индуцированный УФ-светом мутагенез в локусах *ADE4-ADE8*. На основании полученных данных Алексеевой Е. А. предложена модель, согласно которой продукт гена *HIM1* принимает участие в безошибочной ветви пострепликативной репарации. У мутанта *him1Δ* уменьшение уровня дНТФ существенно снижает скорость синтеза ДНК в D-петле в процессе репаративного синтеза ДНК репликативной безошибочной полимеразой Pol δ . Из-за снижения скорости синтеза происходит преждевременное разрушение D-петли эндонуклеазой Mus81-Mms4, что является причиной укорочения вновь синтезированных участков ДНК. В дальнейшем происходит замена полимеразы Pol δ на ошибочную полимеразу Pol η , которая продолжает синтез до первой ошибки, после чего, по всей видимости, ее заменяет Pol ζ , которая и завершает застройку бреши.

Таким образом, в работе исследовано участие гена *HIM1* в пострепликативной репликации, а точнее в ее безошибочной ветви. Для решения задачи применялись адекватные методы генетического анализа, геной инженерии и молекулярной биологии. Достоверность результатов обеспечивается соответствующим статистическим анализом.

Научная и практическая значимость работы.

Полученные результаты имеют теоретическую значимость, состоящую в понимании механизмов толерантности к повреждению ДНК, и могут быть использованы при чтении лекций по курсам Мутационный процесс и Радиобиология.

Оценка работы.

Представленная к защите диссертация Алексеевой Е. А. является завершенным научным исследованием, содержащим решение задачи, имеющей научное и практическое значение. Диссертация написана понятным языком, хорошо структурирована и иллюстрирована многочисленными рисунками. Тема работы является актуальной, исследование обладает внутренней логикой и завершено. Автореферат диссертации правильно отражает содержание работы, ее результаты и выводы. Результаты исследования опубликованы в авторитетных зарубежных и отечественных рецензируемых журналах и докладывались на ряде конференций.

Замечания по работе.

1. Хочется отметить объемный литературный обзор, и глубокое освоение обширного накопленного в литературе материала. Однако при изложении материала допускаются жаргонные выражения.
2. В дальнейшем для проверки предлагаемой модели помимо исследований, проведенных на генетическом уровне, желательно провести исследования на молекулярном уровне. Также пока не ясен механизм снижения уровня дНТФ у мутанта *him1Δ*.

Сделанные замечания не затрагивают защищаемых положений и не оказывают заметного влияния на общую положительную оценку работы.

Заключение.

По актуальности, объему выполненных исследований, научной и практической значимости диссертационная работа Е. А. Алексеевой «Роль гена *HIMI* в регуляции мутационного процесса у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*» полностью соответствует п.п. 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г., (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлениями Правительства РФ от 21.04.2016 №335, ред. От 01.10.2018 №1168, ред. От 20.03.2021 №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Елена Анатольевна Алексеева заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 «Генетика».

Отзыв на данную диссертационную работу обсужден и утвержден на научном Биофизическом семинаре Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ 28 марта 2023 года. Отзыв составлен руководителем группы Радиационной генетики низших эукариот Колтовой Наталией Алексеевной.

Ведущий научный сотрудник
Лаборатории радиационной биологии
Объединенного института ядерных исследований,
доктор биологических наук



Н.А. Колтовая

Объединенный институт ядерных исследований

141980 Московская обл., г. Дубна, ул. Жолио Кюри, 6. e-mail: post@jinr.ru

Подпись Колтовой Наталии Алексеевны удостоверяю.

Ученый секретарь ЛРБ ОИЯИ
к.б.н.



И.В. Кошлань

НАЧАЛЬНИК ОК ОИЯИ
С.В. БОБРОВ
31.05.2023