

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по научной работе
НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ



д.б.н. С.В. Саранцева
2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова национального исследовательского центра «Курчатовский институт» на диссертацию Максютенко Евгении Михайловны «Изучение механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Актуальность темы исследования

Одним из важных направлений современной генетики является изучение причин и механизмов наследственных заболеваний человека. На сегодняшний день известно, что около трети наследственных болезней обусловлены возникновением стоп-кодонов в кодирующих последовательностях различных генов. Тем не менее существование такого универсального механизма, как нонсенс-супрессия, позволяет нивелировать негативные последствия наличия преждевременных стоп-кодонов за счет прочтения их как смысловых. Известно, что нонсенс-супрессия может возникать как за счет присутствия в клетке супрессорных тРНК, так и в результате нарушения процесса терминации трансляции. Одним из самых популярных модельных объектов современной биологии для изучения терминации трансляции и нонсенс-супрессии являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Показано, что у эукариот существует два фактора терминации трансляции, eRF1 и eRF3. Гены SUP45 и SUP35, кодирующие факторы у дрожжей, являются жизненно необходимыми: делеция любого из них приводит к гибели клеток дрожжей. Мутации в этих генах приводят к образованию укороченных белков и снижению уровня полноразмерных eRF1 и eRF3 соответственно. Данные мутации не являются летальными и могут поддерживать жизнеспособность дрожжей в штаммах с разным генетическим фоном, однако они приводят к термочувствительности и летальности аскоспор при мейозе у гетерозиготных диплоидов. В случае всех

перечисленных мутаций клетки остаются жизнеспособными благодаря нонсенс-супрессии. Предполагается, что существуют дополнительные адаптивные механизмы, способствующие выживанию при нарушениях терминации трансляции.

Диссертация построена по традиционному плану и содержит раздел «Введение», главы «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», разделы «Заключение», «Выводы» и «Список литературы», а также дополнена приложениями, содержащими экспериментальные данные для наиболее полной иллюстрации результатов.

Научная новизна исследования

Целью работы явилось изучение механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Максютенко Е.М. проделала большой объем работы по анализу данных полногеномного секвенирования штаммов Петергофской генетической коллекции и выявлению структурных изменений, происходящих в клетках дрожжей, в присутствии мутантных аллелей *sup45-n* и *sup35-n*, на фоне делеции генов *SUP45* и *SUP35*. В представленной работе впервые показано, что адаптация дрожжевых клеток к мутациям в генах факторов терминации трансляции происходит за счет увеличения количества плазмид, несущих мутантные аллели или в результате амплификации числа копий гена фактора терминации трансляции. Продемонстрировано, что присутствие нонсенс-мутаций в генах *SUP45* и *SUP35* в изучаемых штаммах приводит к изменению числа копий мтДНК. Впервые показано, что присутствие в клетках дрожжей нонсенс-мутаций в генах *SUP45* и *SUP35* приводит к увеличению экспрессии генов семейств *CLN*, *CLB*, а также *CDC28*, *SWI6*, когезинов *SMC3*, *IRR1* и генов *MOB1* и *MCD1*, снижению экспрессии *CDC20* и генов, кодирующих белки в составе комплекса *APC/C* (*APC9*, *CDC23*), которые являются ключевыми компонентами, обеспечивающими нормальное протекание клеточного цикла. Впервые предложена гипотеза, согласно которой адаптация дрожжей к мутациям жизненно важных генов факторов терминации трансляции, обусловлена замедлением клеточного цикла и задержкой перехода к делению. Для решения задач применялись адекватные методы генетического анализа, биохимии и молекулярной биологии. Достоверность результатов обеспечивается соответствующим статистическим анализом.

Практическая значимость работы

Данное исследование предоставляет дополнительный теоретический материал о модельном объекте современной генетики, дрожжах *S.cerevisiae*. Изучение парадокса жизнеспособных нонсенс-мутантов имеет существенное значение для фундаментальных исследований в области взаимосвязи эукариотической терминации трансляции, контроля белкового синтеза и клеточного цикла. Полученная информация в дальнейшем может быть использована при исследованиях антибиотиков, аминогликозидов и различных синтетических молекул, способных модулировать эффективность терминации трансляции, а также при изучении и разработке терапевтических средств для заболеваний, связанных с возникновением преждевременных стоп-кодонов.

Оценка работы

Представленная к защите диссертация Максютенко Е.М. 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.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Исследование в представленной к защите работе проведено на высоком научном уровне с использованием общепринятых в данной области методов генетического анализа, биохимии и молекулярной биологии. Результаты работы апробированы в ряде выступлений на международных конференциях и опубликованы, в том числе в высокорейтинговых рецензируемых научных журналах. Выводы работы обоснованы и являются следствиями сделанных в работе наблюдений.

Соответствие специальности: Диссертация Максютенко Е.М. является самостоятельной и законченной научно-квалификационной работой. По объему полученных результатов и их значимости работа Максютенко Е.М. удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика, в направлениях исследований «Генетическая/молекулярно-

генетическая биоинформатика и методы многомерного анализа» и «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Взаимодействие генов».

Вопросы и замечания к диссертационной работе

1. Хочется отметить большой обзор литературы и глубокое освоение обширного накопленного в литературе материала. Однако при изложении материала излишне большое внимание уделено молекулярным механизмам функционирования рибосом. Вместо этого лучше было бы подробнее рассмотреть генетические свойства изучаемых генов. В тексте встречаются ошибки, отсутствие пробелов между словами.

2. При описании экспериментов с использованием центрифуг автор для оценки величины перегрузки использует термин g , хотя по использованным численным показателям, кажется, что использовались обороты/минуту, которые обычно и даны в меню центрифуг. Если автор действительно использовал единицы g , необходимо дать формулу пересчета об/мин на единицы g .

3. Не ясен вопрос, как согласуется частичная дыхательная некомпетентность изучаемых мутантов с значительным накоплением митохондрий у этих мутантов.

Сделанные замечания не затрагивают защищаемых положений и не оказывают заметного влияния на общую положительную оценку работы. Диссертационная работа выполнена на высоком уровне.

Заключение

По актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Е.М. Максютенко «Изучение механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции 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), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Евгения Михайловна Максютенко заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 «Генетика».

Отзыв обсужден и утверждён на Учёном совете Отделения молекулярной и радиационной биофизики (ОМРБ) Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» 3 апреля 2024 года (протокол заседания № 147 от « 3 » апреля 2024 года).

Отзыв подготовил:

Ведущий научный сотрудник
Лаборатории экспериментальной
генетики ОМРБ НИЦ «Курчатовский
институт» – ПИЯФ, д.б.н.



В.Г. Королев

korolev_vg@pnpi.nrcki.ru

Заместитель руководителя ОМРБ
НИЦ «Курчатовский институт» -
ПИЯФ, к.ф.-м.н.



Д.В. Лебедев

lebedev_dv@pnpi.nrcki.ru

Ученый секретарь ОМРБ НИЦ
«Курчатовский институт» – ПИЯФ,
к.ф.-м.н.



К.А. Шабалин

shabalin_ka@pnpi.nrcki.ru

Контакты ведущей организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

188300, Ленинградская область, г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1.

Телефон: +7(81371) 460-25, E-mail: dir@pnpi.nrcki.ru.

Сведения

о ведущей организации по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика Максютенко Евгении Михайловны по теме «Изучение механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*»

Полное наименование организации	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
Сокращенное наименование	НИЦ «Курчатовский Институт» - ПИЯФ
Почтовый адрес с индексом	Россия, 188300, Ленинградская область, г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1
Телефон (канцелярия)	Телефон: +7(813)714-6025, +7(813)714-6047 Факс: +7(813)713-6025
Электронная почта	dir@pnpi.nrcki.ru
Фамилия, имя, отчество. Ученая степень, ученое звание, должность руководителя ведущей организации	Горчаков Сергей Евгеньевич, кандидат экономических наук, директор
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	http://www.pnpi.nrcki.ru/
Лаборатории. Кафедры или другие научные подразделения, деятельность которых связана с научным направлением диссертации	Лаборатория экспериментальной генетики, лаборатория молекулярной генетики человека Отделения молекулярной и радиационной биофизики

Список основных публикаций работников Отделения молекулярной и радиационной биофизики по теме диссертации в рецензируемых изданиях за последние 5 лет:

1. Volnitskiy, A., Shabalin, K., Pantina, R., Varfolomeeva, E., Kovalev, R., Burdakov, V., Emelianova, S., Garaeva, L., Yakimov, A., Sogoyan, M., Filatov, M., Konevega, A. L. and Shtam, T. (2024), 'OCT4 Expression in Gliomas Is Dependent on Cell Metabolism', *Current Issues in Molecular Biology*, 2024 Jan 25;46(2):1107-1120. doi: 10.3390/cimb46020070
2. Volynkina, I.A.; Bychkova, E.N.; Karakchieva, A.O.; Tikhomirov, A.S.; Zatonsky, G.V.; Solovieva, S.E.; Martynov, M.M.; Grammatikova, N.E.; Tereshchenkov, A.G.; Paleskava, A.; et al. Hybrid Molecules of Azithromycin with Chloramphenicol and Metronidazole: Synthesis and Study of Antibacterial Properties. *Pharmaceuticals* 2024, 17, 187. <https://doi.org/10.3390/ph17020187>
3. Evstyukhina TA, Alekseeva EA, Peshekhonov VT, Skobeleva II, Fedorov DV, Korolev VG. The Role of Chromatin Assembly Factors in Induced Mutagenesis at Low Levels of DNA Damage. *Genes (Basel)*. 2023 Jun 10;14(6):1242. doi: 10.3390/genes14061242.

4. Pavlova, J.A.; Tereshchenkov, A.G.; Nazarov, P.A.; Lukianov, D.A.; Skvortsov, D.A.; Polshakov, V.I.; Vasilieva, B.F.; Efremenkova, O.V.; Kaiumov, M.Y.; Paleskava, A.; et al. Conjugates of Chloramphenicol Amine and Berberine as Antimicrobial Agents. *Antibiotics* 2023, 12, 15. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010015>
5. Evstratova, E.S., Korolev, V.G., Petin, V.G. et al. Survival and Genetic Instability of Yeast Cells of Various Genotypes after UV Irradiation. *Biol Bull Russ Acad Sci* 49, 2223–2228 (2022). <https://doi.org/10.1134/S106235902211005X>
6. Evstyukhina TA, Alekseeva EA, Fedorov DV, Peshekhonov VT, Korolev VG. Genetic Analysis of the Hsm3 Protein Function in Yeast *Saccharomyces cerevisiae* NuB4 Complex. *Genes (Basel)*. 2021 Jul 17;12(7):1083. doi: 10.3390/genes12071083.
7. Maksimova EM, Vinogradova DS, Osterman IA, Kasatsky PS, Nikonov OS, Milón P, Dontsova OA, Sergiev PV, Paleskava A, Konevega AL. Multifaceted Mechanism of Amicoumacin A Inhibition of Bacterial Translation. *Front Microbiol*. 2021 Feb 12;12:618857. doi: 10.3389/fmicb.2021.618857.
8. Melentev PA, Sharapenkov EG, Surina NV, Ivanova EA, Ryabova EV, Sarantseva SV. *Drosophila* Lysophospholipase Gene *swiss cheese* Is Required for Survival and Reproduction. *Insects*. 2021 Dec 22;13(1):14. doi: 10.3390/insects13010014.
9. Paleskava A, Maksimova EM, Vinogradova DS, Kasatsky PS, Kirillov SV, Konevega AL. Differential Contribution of Protein Factors and 70S Ribosome to Elongation. *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 5;22(17):9614. doi: 10.3390/ijms22179614.
10. Alekseeva, E.A., Korolev, V.G. DNA Damage Tolerance in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Russ J Genet* 57, 379–389 (2021). <https://doi.org/10.1134/S1022795421040025>
11. edorov, D.V., Evstyukhina, T.A., Peshekhonov, V.T. et al. Pph3 Phosphatase Participates in the Regulation of the Error-Free Branch of Postreplication DNA Repair in Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Russ J Genet* 57, 152–160 (2021). <https://doi.org/10.1134/S1022795421010063>
12. Paleskava A, Kaiumov MY, Kirillov SV, Konevega AL. Peculiarities in Activation of Hydrolytic Activity of Elongation Factors. *Biochemistry (Mosc)*. 2020 Nov;85(11):1422–1433. doi: 10.1134/S0006297920110103.
13. Vinogradova DS, Zegarra V, Maksimova E, Nakamoto JA, Kasatsky P, Paleskava A, Konevega AL, Milón P. How the initiating ribosome copes with ppGpp to translate mRNAs. *PLoS Biol*. 2020 Jan 29;18(1):e3000593. doi: 10.1371/journal.pbio.3000593.
14. Alekseeva, E.A., Evstyukhina, T.A., Peshekhonov, V.T. et al. Participation of the HIM1 gene of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the error-free branch of post-replicative repair and role Polη in him1-dependent mutagenesis. *Curr Genet* 67, 141–151 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00294-020-01115-6>

Даем согласие на размещение персональных данных на официальном сайте ИОГен РАН и в единой информационной системе, включение персональных данных в аттестационное дело и их дальнейшую обработку.

Ведущая организация подтверждает, что соискатель и его научный руководитель не являются ее сотрудником, а также в ведущей организации не ведутся научно-исследовательские работы, по которым соискатель ученой степени является руководителем или работником организации-заказчика или исполнителем (соисполнителем).

Ученый секретарь
НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ
к.ф.-м.н.



С.И. Воробьев

Дата «04» апреля 2024 г.

