



УТВЕРЖДАЮ:
Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской Академии наук
член-корр. РАН Кудрявцев.
« 08 » сентября 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук

Диссертационная работа Максютенко Евгении Михайловны «Изучение механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции у дрожжей» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

В период подготовки диссертации соискатель Максютенко Евгения Михайловна обучалась в очной аспирантуре в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук с 2019 по 2023 год. С 2017 года по 2023 работала в Федеральном государственном бюджетном учреждении Санкт-Петербургском государственном университете на кафедре генетики и биотехнологии, в должности лаборанта - исследователя.

В 2019 г. Максютенко Евгения Михайловна закончила Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» по направлению подготовки 06.04.01 Биология, специализации «Генетика и биотехнология».

Максютенко Е.М. сдала кандидатские экзамены в 2020 г. («Иностранный язык (английский)» и «История и философия науки») и в 2022 г. («Генетика»).

Научный руководитель – Москаленко Светлана Евгеньевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

По итогам рассмотрения диссертации «Изучение механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции у дрожжей» принято следующее **заключение:**

Актуальность исследования:

В настоящее время медицина тесно связана с достижениями биологии и смежных с ней областях знаний. Одним из важных направлений современной генетики является изучение причин и механизмов наследственных заболеваний человека. На сегодняшний день известно, что около трети наследственных болезней, например, мышечная дистрофия Дюшенна, цистофиброз, мукополисахаридоз 1 типа, а также многие формы рака 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-кодона за счет прочитывания 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*. Адаптацию клеток к дефектам трансляции традиционно изучают с использованием штаммов, несущих мутации в генах факторов терминации *SUP35* и *SUP45*.

Ранее было показано, что у *S. cerevisiae* существует два фактора терминации трансляции, eRF1 и eRF3. Гены *SUP45* и *SUP35*, кодирующие эти факторы, являются жизненно необходимыми: делеция любого из них приводит к гибели клеток дрожжей. Однако в нашей лаборатории были получены жизнеспособные штаммы с нонсенс-мутациями как в гене *SUP45*, так и в гене *SUP35*. Показано, что данные мутации 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. Было выявлено что, в случае всех вышеперечисленных мутаций клетки остаются жизнеспособными благодаря нонсенс-супрессии. Тем не менее, количество белка, синтезируемое в результате нонсенс-супрессии, существенно снижено по сравнению с нормой. В связи с этим, можно предположить, что существуют дополнительные адаптивные механизмы, способствующие выживанию при нарушениях терминации трансляции.

Научная новизна и практическая значимость исследования

В рамках обсуждаемой диссертационной работы были впервые получены сборки геномов штаммов дрожжей U-1A-D1628, 74-D694, которые возможно использовать для дальнейшего изучения феномена жизнеспособных нонсенс-мутантов. 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 *SUP35* и *SUP45* в изучаемых штаммах приводит к изменению числа копий мтДНК. Впервые показано, что присутствие в клетках дрожжей нонсенс-мутаций в гене *SUP35* приводит к увеличению экспрессии генов семейств CLN, CLB, а также *CDC28*, *SWI6*, и когезинов *SMC3* 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 затормаживанием клеточного цикла и задержкой перехода к делению.

Выявление механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции имеет существенное значение для фундаментальных исследований в области генетического контроля белкового синтеза. Полученная информация в

дальнейшем внесет вклад в теоретическую базу, которая может быть использована при разработке способов терапии заболеваний, связанных с возникновением преждевременных стоп-кодонов в кодирующих последовательностях генов человека.

Достоверность результатов проведенного исследования

Диссертационная работа является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических и биоинформатических методов. Результаты, полученные в работе, достоверны и воспроизводимы.

Соответствие диссертационной работы избранной специальности

Диссертационная работа соискателя Максютенко Е.М. соответствует избранной специальности 1.5.7 – генетика (согласно п. 12, 14, 17 Паспорта номенклатуры специальностей научных работников по данной специальности).

Личный вклад соискателя

Автор принимал личное участие на всех этапах выполнения работы: в планировании и проведении экспериментов, и анализе данных.

Использованные в ходе работы данные секвенирования штаммов 74-D694 и U-1A-D1628, полученные с использованием секвенатора Oxford Nanopore MinION, предоставили к.х.н Предеус А.В и к.б.н. Белявская А.Я.. Анализ данных полногеномного секвенирования штаммов автор осуществлял совместно с к.б.н Барбитовым Ю.А. Поиск структурных вариаций осуществлял к.б.н Матвеевко А.Г. Автор также являлся основным или одним из основных участников при написании статей по результатам работы.

Ценность научных работ соискателя и полнота изложения материалов диссертации в них

Полученные Максютенко Е.М. результаты обладают высоким уровнем научной значимости. В представленной работе впервые выдвинута гипотеза, объясняющая парадокс жизнеспособных мутантов по генам *SUP35* и *SUP45*. Показано, что механизмом адаптации дрожжевых клеток к мутациям в генах факторов терминации трансляции является увеличение количества плазмид, несущих мутантные аллели или в результате амплификации числа копий гена *sup35-n* или *sup45-n*. Согласно предложенной гипотезе, адаптация дрожжей к мутациям жизненно важных генов факторов терминации трансляции обусловлена замедлением клеточного цикла и задержкой перехода к делению. Выявление механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции вносит существенный вклад в фундаментальные исследования в области взаимосвязи эукариотической терминации трансляции, контроля белкового синтеза и клеточного цикла. Полученная информация в дальнейшем может быть использована в исследованиях антибиотиков и различных синтетических молекул способных модулировать эффективность терминации трансляции при изучении и разработке терапевтических средств для заболеваний, связанных с возникновением преждевременных стоп-кодонов.

Проведённые в ходе данной работы исследования были поддержаны грантом РНФ 18-14-00050-П «Генетический и эпигенетический контроль терминации

трансляции» руководитель гранта д.б.н. Журавлева Г.А. профессор кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ.

По материалам диссертации опубликовано 2 статьи в научных рецензируемых изданиях и 5 тезисов. Основные результаты диссертационной работы были представлены на международных и российских конференциях, а также на научных школах: BGRS/SB-2020 (Россия, Новосибирск 6-10 июля, 2020), 45th FEBS Congress (Словения, 3–8 июля, 2021), 3-ий Российский микробиологический конгресс (Россия, Псков 26 сентября – 1 октября 2021), III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (Россия, Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021), Пущинская школа-конференция молодых учёных с Международным участием "Биология - наука XXI века" (Россия, Пущино, 18-22 апреля 2022). Выполненная работа соответствует специальности 1.5.7. - генетика.

Диссертация Максютенко Е.М. «Изучение механизмов адаптации к нарушениям процесса терминации трансляции у дрожжей» является научно-квалификационной работой, соответствует критериям, предъявляемым к диссертационным работам, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7.- генетика.

Заключение принято на межлабораторном семинаре Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Результаты голосования: «за» – 18 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 1 от 7 сентября 2023 г.

Руководитель семинара,
д.б.н., профессор
заведующий лабораторией генетических основ биоразнообразия
Муха Д.В.

Подпись
удостоверяю



УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
Д. Б. Н
ГОРЯЧЕВА И.И.

