

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Малявко Александра Николаевича «Регуляция длины теломер дрожжей *Hansenula polymorpha*», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «биоорганическая химия»

Данное диссертационное исследование направлено на решение актуальной конвергентной научной проблемы, связанной с изучением механизмов регуляции длины теломер у эукариот. Проблема стабилизации/дестабилизации длины теломер тесно связана с механизмами старения эукариотических клеток и процессами онкогенеза, изучение которых вызывает большой интерес у мировой медицинской науки. Понимание частных механизмов, регулирующих длину теломер у эукариот, в частности у почкующихся дрожжей, могут способствовать успешному решению аналогичных научных проблем в отношении высших эукариот, включая человека.

Целью научной работы диссертанта было изучение возможности регуляции длины теломер термотолерантных дрожжей *Hansenula polymorpha* при помощи обратной транскрипции нуклеотида A170 в составе РНК-компонента теломеразы (HrTER), а так же провести анализ белков-кандидатов, вовлеченных в данный процесс.

Используя метод «теломерного» ПЦР в сочетании с высокопроизводительным секвенированием полученных ампликонов теломерных повторов *Hansenula polymorpha*, автор показал, что обратная транскрипция нуклеотида A170 HrTER происходит с встраиванием дополнительного dT нуклеотида. При этом при прочтении после секвенирования «полноразмерных» ридов было установлено, что только самый последний теломерный повтор содержит dT- нуклеотид в нужном положении согласно контексту матрицы. Более того, автор показал, что 90% проанализированных концевых повторов содержит именно dT, т.е., другими словами, практически каждая теломера в дрожжевой клетке имеет на 3'-конце данный нуклеотид. Таким образом, данный процесс ограничивает длину теломер *Hansenula polymorpha* за счет нарушения способности продукта теломеразной реакции репозиционироваться в начало матричного участка HrTER. Нужно отметить, что аналогов данному способу регуляции длины теломер и, следовательно, активности теломеразы, в других организмах не найдено, даже среди дрожжей. Для изучения функциональной значимости обратной транскрипции нуклеотида A170 и включения дополнительного dT в концевой теломерный повтор автор провел мутагенез матричного участка HrTER, в том числе осуществил замены в A170 на A170G, A170C и A170U. При этом, только замена A170C приводила к увеличению длины теломер, поскольку появление dG в продукте теломеразной реакции способствовало дальнейшей элонгации данной теломерной последовательности. Таким образом, автору удалось показать, что обратная транскрипция нуклеотида A170, входящего в состав матричного участка РНК-компонента теломеразы, и встраивание дополнительного dT может реализоваться *in vivo* и этот процесс лимитирует длину теломер *Hansenula polymorpha*.

Дальнейшие исследования диссертанта были посвящены изучению регуляции длины теломер теломерными белками *Hansenula polymorpha*. Поиск и идентификация белков, регулирующих длину теломер в геноме *Hansenula polymorpha*, осуществляли по базе данных NCBI при помощи программы BLAST, используя при запросе последовательности гомологичных белковых аналогов *Saccharomyces cerevisiae* при значениях оценки выравнивания выше 40.

При анализе длины теломер в «нокаутных» штаммах с делециями генов белков Rap1A, Rap1B, Rif1, Mre11, Tel1 и в штамме дикого типа *Hansenula polymorpha* было установлено, что единственным белком, регулирующим теломеры данного вида дрожжей, является белок Rif1. Это



оказалось интересным фактом, так как все вышеуказанные белки (гомологи) у *Saccharomyces cerevisiae* являются участниками одного регуляторного пути и функционально связаны друг с другом. При этом автор делает закономерный вывод, что действие Rif1 *Hansenula polymorpha* на длину теломер и на активность теломеразы может происходить не согласно модели «счета белков» (как в случае *Saccharomyces cerevisiae*), а по иному механизму. Этот вывод подтверждается данными, полученными диссертантом, о том, что белок Rif1 регулирует длину теломер у *Hansenula polymorpha* независимо от Rap 1.

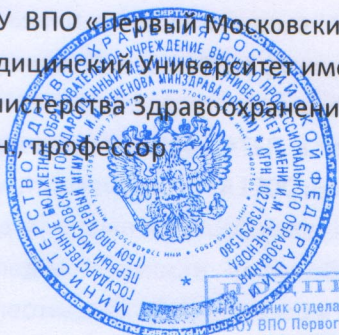
Таким образом, в целом получена новая научная информация о наличии уникального механизма регуляции длины теломер у представителя дрожжей *Hansenula polymorpha* за счет обратной транскрипции дополнительного нуклеотида в составе теломеразной РНК. При этом установлено, что регуляция длины теломер *Hansenula polymorpha* теломерными белками радикально отличается от таковой в *Saccharomyces cerevisiae*.

Сделанные автором выводы полностью соответствуют представленным результатам. Данные исследования доложены на международных конференциях и опубликованы в высокорейтинговых зарубежных и российских журналах.

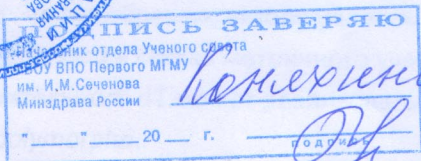
Анализ автореферата диссертации Малякво А.Н. позволяет заключить, что она является самостоятельной и законченной научно-исследовательской работой.

Хочется отметить, что по актуальности, новизне и глубине осмысления результатов, а также по уровню владения современными молекулярно-биологическими методами, данная диссертационная работа соответствует всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Малякво Александр Николаевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «биоорганическая химия».

Профессор кафедры биохимии  
ГБОУ ВПО «Первый Московский Государственный  
Медицинский университет имени И.М.Сеченова»,  
Министерства Здравоохранения РФ  
д.б.н., профессор



А.И.Глухов



Комарова О. В.