

ОТЗЫВ

на диссертационную работу Васильевой Елены Андреевны
**«РОЛЬ ЛИЗИН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9
В РЕГУЛЯЦИИ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА SAM68»**,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности: 03.01.03 – молекулярная биология.

Актуальность работы

Известны некоторые аспекты роли белка Sam68 в онкогенезе. Экспрессия гена Sam68 повышена в определенных опухолевых клетках и коррелирует со степенью туморогенности и наличием отдаленных метастаз у пациентов. В данной работе изучена роль метилтрансферазы Set7/9 в регуляции РНК-связывающего белка Sam68. Таким образом, актуальность диссертационной работы Васильевой Елены Андреевны не вызывает сомнения.

Общая характеристика работы

Диссертация Васильевой Елены Андреевны «РОЛЬ ЛИЗИН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 В РЕГУЛЯЦИИ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА SAM68» состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 98 источников, и благодарностей. Диссертация изложена на 111 страницах. Иллюстративный материал содержит 26 рисунков и 3 таблицы. Целью данной работы было исследование особенностей регуляции РНК-связывающего белка Sam68 посредством лизин-специфичной метилтрансферазы Set7/9. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи. Показать физическое взаимодействие метилтрансферазы Set7/9 и РНК-связывающего белка Sam68 *in vivo* и *in vitro*, а также выявить домены, отвечающие за данное взаимодействие. Продемонстрировать Set7/9 - опосредованное метилирование Sam68 и идентифицировать сайт метилирования. Охарактеризовать особенности внутриклеточной локализации белка Sam68 в клеточных линиях НЕК293Т и рака толстой кишки НСТ116. Определить роль Set7/9 в Sam68-опосредованной регуляции апоптоза и клеточного цикла. Поставленные задачи автором выполнены в полном объеме.

В ходе выполнения работы были применены такие методы, как культивирование клеточных линий НЕК293Т и НСТ116, геномное редактирование системой CRISPR/Cas, трансфекция клеток плазмидами, получение стабильных клеточных линий с использованием антибиотика, выделение РНК, обратная транскрипция и ПЦР в реальном времени, сайт-направленный мутагенез, бактериальный синтез рекомбинантных белков и их очистка с использованием глутатион-сефарозы, а также с использованием Ni-агарозы. Кроме того, автором применялось иммуноцитохимическое окрашивание клеточных линий и проточная цитометрия. Учитывая перечисленные методы и полученные с их помощью результаты, можно утверждать, что работа выполнена на хорошем современном уровне.

Показано, что белок Sam68 взаимодействует с метилтрансферазой Set7/9 *in vivo* и *in vitro*, идентифицированы домены, отвечающие за данное взаимодействие. Метилтрансфераза Set7/9 метилирует КН-домен РНК-связывающего белка Sam68 в положении K208. Выявлено, что отсутствие метилтрансферазы Set7/9 приводит к снижению общего белкового уровня Sam68 в клетках HEK293T и в клетках HCT116. Обнаружено, что метилтрансфераза Set7/9 вовлечена в регуляцию сплайсинга Bcl-x. Нокаут Set7/9 приводит к продукции анти-апоптотической изоформы Bcl-x(L), в то время как сверхэкспрессия Set7/9 способствует образованию короткой про-апоптотической Bcl-x(s) изоформы. Set7/9 необходима для Sam68-опосредованной репрессии циклинов D1 и E. Доказано, что низкий уровень экспрессии метилтрансферазы Set7/9 является негативным прогностическим маркером для пациентов с раком толстой кишки и высоким уровнем экспрессии Sam68.

Работа полностью соответствует поставленным цели и задачам, данные исследования отражены в списке публикаций, выводы логично вытекают из представленных результатов. Реферат оформлен практически без погрешностей.

Заключение

Диссертация Диссертация Васильевой Елены Андреевны «РОЛЬ ЛИЗИН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 В РЕГУЛЯЦИИ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА SAM68», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.01.03 – молекулярная биология, является законченной квалификационной научно-исследовательской работой фундаментального характера с потенциальным практическим выходом, выполненная на высоком профессиональном уровне. Опубликованные печатные работы и текст автореферата полностью отражают содержание и выводы диссертации. Работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук.

14.02.2018 г.

Равен

Н.с. Отдела молекулярной генетики

Федерального государственного бюджетного учреждения
«Научно-исследовательский институт экспериментальной
медицины» к.м.н. Поляков Дмитрий Степанович

Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 11

Тел. 234-33-56, ravendoctor@mail.ru



Подпись *Полякова Д. С.*
Достоверяется
Зам. отд. кадров ФГБНУ «ИЭМ»

Д. С. Поляков