

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента на диссертационную работу Ключниковой Анны Алексеевны  
«Перекодирование белков в центральной нервной системе модельных организмов и  
человека вследствие редактирования матричной РНК аденоzindezaminazами»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 1.5.4. – «Биохимия»

### **Актуальность темы диссертации**

В настоящее время протеогеномика, основанная на интеграции результатов геномных, транскриптомных и протеомных данных, является новой быстро развивающейся областью молекулярного анализа. Такой подход позволяет выявить и количественно оценить изменения в первичной структуре белка, связанные с изменениями с геноме или транскриптоме. В этой работе протеогеномный подход был применен для обнаружения событий перекодирования белков, возникших в результате работы ферментов семейства РНК-зависимых аденоzindezaminaz, ADAR. Процесс, при котором указанные ферменты изменяют аденоцины на инозины в последовательности мРНК, называется редактированием РНК. Это явление является не до конца изученным, тем не менее, достоверно известно, что перекодирование белков вследствие редактирования имеет важную роль для нормального развития центральной нервной системы множества организмов, от насекомых до млекопитающих.

Несомненным большим достоинством работы Ключниковой А.А. является то, что диссидентант поставил своей целью с помощью протеогеномного подхода идентифицировать перекодированные белковые последовательности, возникшие в результате редактирования РНК, в масштабе протеомов центральной нервной системы модельных организмов и человека. Другими словами, целью работы была оценка возможностей протеогеномного подхода для изучения последствий редактирования РНК в клетках и тканях организмов, редактирование в которых играет важную роль.

### **Структура и содержание диссертации, ее основные характеристики**

Диссертация Ключниковой А.А. построена по традиционному плану и состоит из краткого введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методов, изложения полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, содержащего 218 источников, содержит разделы, посвященные благодарностям, финансированию, а также приложение. Диссертация изложена на 114 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц и 11 рисунков.

Обзор литературы состоит из 5 разделов. В первом разделе приводится информация об эволюции ферментов семейства ADAR, описывается механизм действия этих ферментов и кратко обозначается функциональная роль явления перекодирования вследствие редактирования РНК. Следующие 3 раздела посвящены подробному описанию роли ферментов ADAR в формировании иммунного ответа, развитии злокачественных опухолей, а также влиянии ADAR на развитие центральной нервной системы. В четвертом разделе кратко описаны способы идентификации событий редактирования РНК, существующие на сегодняшний день. Пятый раздел посвящен протеогеному подходу и его достижениям для поиска перекодированных редактированием РНК сайтов, известным на сегодняшний день.

Завершая анализ обзора литературы можно заключить, что диссертант в совершенстве владеет обширными сведениями по теме своего исследования, ясно видит значимость изучения явления редактирования РНК с использованием конкретных материалов и методов. Я ни в коей мере не хотел бы умалять больших достоинств обзора, включающего 130 литературных источников, но мне кажется, что объем этого раздела диссертационной работы описан скучно, всего на 15 страницах. Некоторые сведения о роли ферментов ADAR представлены только в табличном варианте и описаны очень кратко. Впрочем, это может быть оправдано тем, что накопленных сведений по изучению явления редактирования РНК именно на протеомном уровне не так и много.

Раздел «Материалы и методы» содержит информацию о данных, полученных из открытого доступа и собственных данных, полученных в исследовании. Также раздел включает подробные протоколы всех методик, использованных в исследовании. Подробное описание материалов и методов дает представление о схеме эксперимента и статистической достоверности полученных результатов.

Раздел «Результаты и обсуждение» разбит на несколько логических частей в соответствии с поставленными перед диссертантом задачами. В этой работе впервые были использованы панорамные протеомы головного мозга плодовой мушки, мыши и человека для выявления в этих организмах перекодирования белков, возникших в результате редактирования мРНК. Нет сомнения в том, что идентификация событий перекодирования представляет собой сложную задачу для протеомных исследований. Именно поэтому были синтезированы пептиды, содержащие в своем составе как перекодированную версию пептида, так и варианты, кодируемые в консенсусном геноме. В ходе этих экспериментов было убедительно показано, что с помощью мониторинга множественных реакций события перекодирования можно не только идентифицировать качественно, но и найти количественное соотношение двух форм пептидов,

показывающее процент перекодирования вследствие редактирования РНК. Из замечаний стоит отметить, что подтверждение событий перекодирования вследствие редактирования на геномном и траскриптомном уровне более полно проведено на плодовых мушках, такие эксперименты на мышах и людях отсутствовали в диссертационной работе. Тем не менее, подтверждение редактирования РНК у этих двух организмов было проведено на протеомном уровне и дало убедительные результаты. Подраздел 4.2.5 описан очень кратко ввиду отрицательного результата, что не отменяет важности включения этой части эксперимента в диссертационное исследование.

В «Заключении» автор приводит краткую аннотацию проведенного исследования и рекомендации по практическому применению результатов. Выводы, представленные в конце диссертационной работы, полностью соответствуют полученным результатам экспериментов, четко сформулированы, отвечают поставленным задачам и положениям, выносимым на защиту.

Раздел «Приложение» включает типовые аннотированные спектры, результаты панорамного протеомного поиска, а также дополнительные материалы по исследованию стадий метаморфоза плодовой мушки.

Автореферат полно отражает основное содержание работы. По теме диссертации опубликовано 13 работ, представленных в зарубежных и российских рецензируемых научных журналах, а также в трудах международных и российских конференций.

### **Заключение**

Завершая анализ диссертационной работы Ключниковой А.А., можно заключить, что данное исследование посвящено изучению важного и интересного явления, выполнено на высоком методическом уровне и содержит ряд перспективных для дальнейшего изучения направлений, позволяющих с помощью протеогеномного подхода исследовать перекодирование белков, возникающее в результате редактирования мРНК. Диссертационная работа Ключниковой А.А. является законченным квалификационным исследованием и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 (в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018, № 1168, с изменениями от 20.03.2021 №426), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук. Ее автор, Ключникова Анна Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия».

Член-корреспондент РАН,  
доктор биологических наук  
по специальности 1.5.1 (03.01.01) - радиобиология  
зав. лабораторией геропротекторных  
и радиопротекторных технологий  
Института биологии  
Коми научного центра  
Уральского отделения  
Российской академии наук

*Москалев* Москалев Алексей Александрович

телефон +7-912-1498300

e-mail: amoskalev@list.ru

167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28

Подпись А.А. Москаleva удостоверяю.

Заместитель директора по научной работе,  
временно исполняющий обязанности  
ученого секретаря  
Института биологии Коми научного центра  
Уральского отделения Российской академии наук

*Чадин И.Ф.*

/Чадин И.Ф./

20.10.2012

М.П.

