

УТВЕРЖДАЮ
Директор федерального
государственного бюджетного
учреждения «Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии
имени Н. Н. Блохина» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН И. С. Стилиди



2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Ларионовой Татьяны Дмитриевны
**«Сравнительный анализ изоформ рибосомального белка RPL22L1 в
регуляции фенотипа клеток глиобластомы»**, представленную на соискание
учёной степени кандидата биологических наук по специальности
1.5.3 Молекулярная биология

1. Актуальность темы диссертации

Онкологические заболевания являются одной из ведущих причин смертности во всем мире. Одна из наиболее агрессивных злокачественных опухолей - глиобlastома головного мозга. Эта опухоль особенностью этой опухоли – высокая гетерогенность клеток. Отдельные популяции клеток глиобlastомы обладает разной чувствительностью к противоопухолевой терапии. Становление лекарственной устойчивости определяет прогрессию заболевания. Механизмы, приводящие к возникновению различающихся по свойствам клеток в одном опухолевом очаге, исследованы недостаточно. В связи с этим работа Т.Д. Ларионовой, посвященная исследованию одного из таких механизмов, высоко актуальна.

2. Связь с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Исследование соответствует задачам мероприятия 1.2. «Проведение проблемно-ориентированных поисковых исследований и создание научно-технического задела по технологиям в области живых систем» федеральной целевой программы "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы" (Постановление Правительства РФ от 17 октября 2006 г. № 613).

3. Новизна полученных результатов и выводов

В работе впервые исследован протеом рибосом клеток глиобластомы, выделенных из разных зон опухоли («краевой» и «центральной»). Установлено, что состав рибосом в этих клетках различен и причина наблюдаемых различий заключается в альтернативном сплайсинге пре-мРНК рибосомных белков. В данной работе Т. Д. Ларионова впервые установила, что в результате альтернативного сплайсинга возникают две изоформы рибосомного белка RPL22L1: RPL22L1a (известная ранее) и RPL22L1b (обнаруженная в диссертационном исследовании).

На основании проведенных экспериментов были определены функции изоформ RPL22L1: RPL22L1a входит в состав рибосомы и задействована в регуляции трансляции, способствуя возникновению менее агрессивного фенотипа клеток глиобластомы, а RPL22L1b не является компонентом рибосомы, но участвует в регуляции сплайсинга за счет деградации длинной некодирующей РНК MALAT1, что приводит к усилению стволовых свойств опухолевых клеток.

В работе Т. Д. Ларионовой установлен молекулярный механизм, регулирующий появление RPL22L1b: в ответ на закисление внеклеточного микроокружения происходит увеличение экспрессии фактора сплайсинга SRSF4, появление которого приводит к смещению сплайсинга пре-мРНК RPL22L1 в сторону образования RPL22L1b.

Кроме того, был обнаружен низкомолекулярный ингибитор киназ сплайсосомных белков (соединение Fg1059), приводящий к изменению уровня

фосфорилирования SRSF4 и нарушению его функций. Показано, что после обработки клеток глиобластомы соединением Fg1059 изменяется сплайсинг пре-мРНК RPL22L1 с образованием нефункционального транскрипта.

По результатам работы автор предложила новый механизм формирования внутриопухолевой гетерогенности глиобластомы.

4. Структура и содержание работы

Диссертационная работа построена по стандартному принципу, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования и обсуждения, завершается выводами, списком литературы и приложением.

«Обзор литературы» разделен на три раздела. В первом автор подробно описывает существующую классификацию глиобластом и рассматривает основные морфологические области опухолей. Широко освещается тема закисления внеклеточного микроокружения в глиобластомах, механизмы адаптации опухолевых клеток к существованию в этих условиях и последствия для течения заболевания. Отдельная глава посвящена механизму альтернативного сплайсинга, его регуляции и роли в развитии злокачественных новообразований. Так как не только транскриптом, но и протеом имеет большое значение в формировании фенотипа клеток, в третьей части «Обзора» подробно описывает роль рибосом в формировании набора клеточных белков. В целом, обзор литературы написан понятным языком, сложные вопросы изложены на профессиональном уровне.

Раздел «Материалов и методов» содержит подробное описание всех использованных экспериментальных методов, реагентов и оборудования. Методический уровень работы современен и очень высок.

В главе «Результаты и обсуждения» представлены полученные автором данные о различиях в белковом составе рибосом, которые были выделены из клеток разных зон опухоли («краевой» и «центральной»). Автор анализирует причины приводящие к этим различиям и делает вывод о том, что на протеом рибосом влияет альтернативный сплайсинг пре-мРНК рибосомных белков. По результатам анализа альтернативного сплайсинга пре-мРНК рибосомных белков

клеток глиобластомы обнаружены две изоформы белка RPL22L1: RPL22L1a и RPL22L1b. Используя разные подходы, автор подтверждает присутствие как соответствующих мРНК, так и самих изоформ RPL22L1 в различных клеточных линиях. Кроме того, Ларионова Т.Д. доказывает наличие изоформ RPL22L1 и в тканях глиобластомы, полученных от пациентов. Далее подробно исследуются функции каждой из изоформ RPL22L1. Автор изучает условия микроокружения, влияющие на образование изоформы RPL22L1b, а также механизмы регуляции сплайсинга пре-мРНК RPL22L1. В заключительной части Т. Д. Ларионова описывает низкомолекулярный ингибитор киназ сплайсосомных белков – соединение Fg1059 – одним из эффектов которого является изменение сплайсинга пре-мРНК RPL22L1 в клетках глиобластомы.

Выводы, вытекающие из представленных данных, полностью отражают существо проведенных исследований.

Список литературы включает все использованные источники (183 ссылки). Текст диссертации содержит 3 таблицы, 56 рисунков.

5. Значимость для науки и практики

Работа имеет два приложения: фундаментальный (общебиологический) аспект представлен новизной молекулярного механизма регуляции экспрессии генов на уровне трансляции мРНК. С практических позиций значимость результатов диссертанта определяется важностью патогенетических особенностей указанной регуляции как мишеней терапии высоко злокачественной опухоли – глиобластомы.

6. Рекомендации по использованию результатов диссертации

Результаты исследований роли изоформ рибосомных белков в регуляции фенотипа опухолевых клеток важны для расширения знаний о механизмах развития опухолей и исследований роли микроокружения в канцерогенезе. Особую ценность представляют результаты, полученные на образцах опухолей пациентов. Результаты работы могут использоваться в материалах лекций по молекулярной онкологии профильных университетов и медицинских вузов.

7. Замечания по диссертационной работе

Несмотря на общую высокую оценку работы, есть некоторые замечания, вопросы и пожелания:

1. Рекомендуется провести больше исследований, подтверждающих взаимодействие RPL22L1b с длинной некодирующей РНК MALAT1. Автор детектировала MALAT1 как одну из молекул РНК, связывающихся с RPL22L1b в РНК-иммунопреципитации. Так как RPL22L1b является РНК-связывающим белком и может взаимодействовать с многими молекулами РНК, необходимо особое внимание уделить подтверждению специфичности такого взаимодействия. В частности, можно выполнить «обратный» эксперимент: иммунопреципитировать белки, взаимодействующие с MALAT1, и установить, есть ли среди его партнеров RPL22L1b.

2. Рекомендуется формулировать результаты исследования более точно. В частности, вывод «Экспрессия RPL22L1b влияет на сплайсинг в клетках GBM за счет деградации длинной некодирующей РНК MALAT1» (с учетом указанного в п.1) следует формулировать как предположение.

3. В тексте имеются грамматические ошибки и опечатки.

Указанные замечания не снижают высокой ценности диссертационной работы.

8. Печатные работы

По теме диссертации опубликовано 6 статей в рецензируемых научных журналах, внесенных в перечень изданий, утвержденных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, и два тезиса докладов в сборниках материалов российских научных конференций в 2020-2021 гг.

Заключение

Диссертационная работа Ларионовой Т.Д. «Сравнительный анализ изоформ рибосомального белка RPL22L1 в регуляции фенотипа клеток глиобластомы» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной задачи по установлению механизмов, приводящих к

формированию внутриопухолевой гетерогенности глиобластомы, что имеет значение для молекулярной онкологии. По актуальности темы, объему проведенных исследований и полученным результатам полностью соответствует требованиям, соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология.

Отзыв обсужден и одобрен на совместной конференции лабораторий генетики опухолевых клеток, механизмов гибели опухолевых клеток, цитогенетики, регуляции клеточных и вирусных онкогенов, регуляции иммунитета и отдела химического канцерогенеза федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), протокол № 2 от «27» декабря 2022 г.

Ведущий научный сотрудник лаборатории генетики опухолевых клеток
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
доктор биологических наук

Шушанов Саин Сакенович

Подпись С.С. Шушанова заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
кандидат медицинских наук

Кубасова Ирина Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный
медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

115522, Москва, Каширское шоссе, 24. Тел.: +7 (499) 324-24-24.

Электронная почта: info@ronc.ru

Официальный сайт: www.ronc.ru