

Рецензия

на выпускную квалификационную работу – магистерскую диссертацию

Котряховой Елены Николаевны

«Изучение ультразвуковой фрагментации хроматина активных генов»

В последние годы существенный прогресс был достигнут в понимании механизмов ремоделирования хроматина и перехода ДНК для реализации своих матричных функций из нуклеосомной в декомпактизованную форму. Подробно изучены различные посттрансляционные модификации гистонов и негистоновых белков хроматина, что изменяет их связь с ДНК, способствуя преобразованию хроматина и экспрессии определенных генов. Тем не менее, данные об организации хроматина кодирующих областей активных генов остаются противоречивыми и одним из подходов, позволяющих изучить данную проблему, является анализ фрагментации хроматина в составе клеточных ядер. В этой связи работа Котряховой Е.Н., посвященная выбору оптимальных условий для препаративного выделения фракции фрагментов активных генов на примере ДНК гена триптофандиоксигеназы из ядер печени крысы после ультразвуковой обработки, представляется актуальной.

Работа Котряховой Е.Н. построена классическим образом, включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы и список цитируемой литературы.

Во введении автором дается оценка современного состояния проблемы, обосновывается актуальность выбранной темы, формулируются цель и задачи исследования. Возможно было бы нелишним в данном разделе упомянуть о прикладной ценности полученных результатов.

Обзор литературных данных отражает отличное знакомство автора с современными научными источниками, достаточно обширен и содержит раздел, дающий представление о роли гистонов и негистоновых белков в процессах декомпактизации нуклеосом и перехода хроматина в активную конформацию, включая самые последние данные об участии модифицированных форм и неканонических вариантов гистонов, белков HMG, компонентов ремоделирующих комплексов, участвующих в преобразовании нуклеосомной структуры хроматина для транскрипции; разделы, подробно описывающие стадию элонгации транскрипции и организацию хроматина кодирующих областей активных генов, и, наконец, раздел, посвященный различным методическим приемам, которые используются для получения фракций хроматина активных генов. Небольшой заключительный раздел, где еще

раз акцентируется внимание на необходимости разработки методов фракционирования хроматина создает плавный переход к экспериментальной части работы. Обзор написан хорошим литературным языком, отличается логической последовательностью всех разделов, хорошо иллюстрирован, автор приводит ссылки практически на все экспериментальные работы, которые упоминаются в тексте. Возможно, нелишним был бы раздел, содержащий описание компактной структуры нуклеосомы, и, в частности, характера ДНК-гистоновых и гистон-гистоновых взаимодействий в репрессированном хроматине. Это придало бы обзору еще большую логическую завершенность и взаимосвязь с собственными данными автора, на основании которых он приходит к заключению, что эти взаимодействия изменяются при переходе хроматина в активную конформацию. К недостаткам обзора нужно отнести большое количество опечаток и пунктуационных ошибок, которые хотя и не влияют на восприятие литературных данных, все же несколько портят общее хорошее впечатление от обзора. Список используемых сокращений присутствует, однако, не все используемые сокращения присутствуют в списке.

Методическая часть содержит обоснованное и достаточное количество биохимических и молекулярно-биологических методов, которые использовались автором для решения поставленных задач. Стиль изложения без излишней детализации, но вполне корректный, что позволяет понять как суть выбранных автором методов, так и последовательность основных этапов экспериментальной работы.

Часть, содержащая описание результатов собственных исследований, хотя и несколько лаконична, тем не менее, свидетельствует о большой препартивной и аналитической работе, проделанной автором при подборе оптимального режима ультразвуковой обработки хроматина. Выявлено, что при мягкой ультразвуковой обработке образуются два класса различных по длине фрагментов хроматина, при этом наблюдается их специфическая экстракция различными солевыми растворами. Обнаружено, что протяженные фрагменты обогащены ДНК кодирующей области гена tdo, а низкомолекулярные – фланкирующими областями. Показано, что во фракциях хроматина активных генов, гистоны представлены в неэквимолярных пропорциях. Небольшое замечание по данному разделу касается дублирования некоторых методических описаний, которые уже были приведены в соответствующем разделе. Также несколько ухудшает восприятие иллюстраций разнесение по разным страницам некоторых рисунков и пояснений к ним.

В разделе «Обсуждение» полученные данные сопоставляются с результатами исследований других авторов и выдвигаются гипотезы, позволяющие объяснить специфику

ультразвукового воздействия на хроматин в условиях эксперимента и неэквимолярную представленность гистонов, предполагающую изменения как ДНК-гистоновых, так и гистон-гистоновых взаимодействий в хроматине кодирующих областей при переходе его в активное состояние.

После ознакомления с последними двумя разделами возникли вопросы:

1. Может ли считаться наблюдаемое повышение температуры суспензии ядер при предложенной ультразвуковой обработке существенным для стимулирования действия эндогенных нуклеаз?
2. Необходима ли дальнейшая оптимизация режима ультразвуковой обработки хроматина и, если необходима, то в чем именно, и какие методические подходы предполагается для этого применить?

Выводы работы находятся в полном соответствии с полученными результатами и ясно сформулированы.

Работа иллюстрирована 14 рисунками и 1 таблицей.

Несмотря на сравнительно небольшой объем диссертации, список цитируемой литературы весьма обширен и содержит 133 ссылки на отечественные и иностранные источники

Актуальность темы диссертации, адекватность методов поставленным задачам и достоверность полученных результатов, не вызывают сомнения. Хотя работа носит методический характер, в процессе разработки условий фракционирования хроматина получены оригинальные данные, касающиеся дискуссионных вопросов по организации структурных единиц хроматина при его переходе в активную конформацию. Таким образом, выпускная квалификационная работа Котряховой Е.Н. соответствует всем требованиям, предъявляемым к магистерским диссертациям, и заслуживает оценки «отлично».

Доцент Кафедры биохимии СПбГУ, к.б.н.



Цветкова Елена Викторовна