

ОТЗЫВ
на автореферат диссертационной работы
Сивкиной Анастасии Львовны на тему
«Роль субъединиц и доменов комплекса FACT в разворачивании нуклеосом»,
представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология»

Работа Сивкиной Анастасии Львовны посвящена изучению роли субъединиц и доменов комплекса FACT в молекулярном механизме разворачивания нуклеосом. Комплекс FACT – АТФ-независимый ремоделер нуклеосом, участвующий в транскрипции, репарации и репликации ДНК. Наиболее исследованными на сегодня являются дрожжевой (yFACT) и человеческий комплекс (hFACT). Каждый из комплексов состоит из нескольких субъединиц, наличие которых необходимо для разворачивания нуклеосомы. Кроме, того последние исследования показали, что hFACT является мишенью противоопухолевых препаратов класса кураксинов.

Для изучения механизма разворачивания нуклеосом комплексом FACT, автор использовал ранее разработанную экспериментальную систему на основе мононуклеосом, которая позволяет отслеживать изменения в расстоянии между соседними супервитками нуклеосомной ДНК методом spFRET. Было продемонстрировано, что для полного раскручивания ДНК необходим четырехкратный молярный избыток субъединицы Nhrb над димером Spt16/Pob3. С использованием метода электронной микроскопии с негативным контрастированием, а также данных крио-ЭМ и электрофореза автором был предположен механизм разворачивания нуклеосомы белковым комплексом yFACT, в котором субъединица Nhrb присоединяется к нуклеосомной ДНК и дестабилизирует ДНК-гистоновые контакты, а затем взаимодействует с комплексом Spt16/Pob3 меняя конформацию с «закрытой» на более «открытую», которая позволяет комплексу обратимо связываться с нуклеосомой и разворачивать дестабилизированную нуклеосому. В дальнейшем, проанализировав результаты spFRET-микроскопии и ЭМ с негативным контрастированием в присутствии CBL0137, который является антираковым препаратом группы кураксинов, предложена модель процесса разворачивания нуклеосомы белковым комплексом hFACT в присутствии ДНК-интеркалятора. Так интеркалятор индуцирует частичное вытеснение нуклеосомной ДНК от октамера, что приводит к высвобождению поверхности для связывания с hFACT и дестабилизации нуклеосомы. Далее hFACT связывается с такой дестабилизированной нуклеосомой, что запускает последовательность событий, приводящие к образованию промежуточных развернутых комплексов содержащие практически полностью развернутую нуклеосомную ДНК.

Таким образом, с использованием различных методов, автором детально изучен молекулярный механизм разворачивания нуклеосом комплексом yFACT и hFACT, а также механизм разворачивания нуклеосом в присутствии противоопухолевых препаратов группы кураксинов. Данная исследовательская работа полностью соответствует всем предъявляемым к кандидатским диссертациям требованиям.

Научный сотрудник
лаборатории стабильности генома
Института биологии гена РАН
к.б.н.
Лужин Артем Васильевич