

Заключение диссертационного совета МГУ.015.4
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «23» марта 2023 г. №5

О присуждении Каплун Дарьи Сергеевне ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Поиск и характеристика новых механизмов влияния белка Kaiso на метилирование ДНК» по специальности 1.5.3. – «молекулярная биология» принята к защите диссертационным советом 9 февраля 2023 года, протокол № 4.

Соискатель Каплун Дарья Сергеевна 1991 года рождения, в 2013 году соискатель с отличием окончила магистратуру химического факультета Донецкого Национального университета по специальности «Биохимия». В 2020 году окончила аспирантуру в Институте Биоинженерии им. К.Г. Скрыбина Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». С 2016 года по настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории геномики и эпигеномики позвоночных Института Биоинженерии им. К.Г. Скрыбина Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории геномики и эпигеномики позвоночных Института Биоинженерии им. К.Г. Скрыбина Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Научный руководитель – кандидат физико-математических наук, Женило Светлана Валерьевна, старший научный сотрудник в лаборатории геномики и эпигеномики позвоночных Института Биоинженерии им. К.Г. Скрыбина Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Официальные оппоненты:

Сергиев Петр Владимирович, д.х.н., чл.-корр. РАН, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, профессор кафедры химии природных соединений;

Варижук Анна Михайловна, д.х.н., ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства имени академика Ю.М. Лопухина», заведующий лабораторией структуры и функций биополимеров;

Брага Элеонора Александровна, д.б.н., профессор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», главный научный сотрудник лабораторией патогеномики и транскриптомики.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 8 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 4 работы, из них 4 статьи, опубликованных, в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.3. – молекулярная биология.

1. Zhenilo S., Deyev I., Litvinova E., Zhigalova N., Kaplun D., Sokolov A., Mazur A., Prokhortchouk E. DeSUMOylation switches Kaiso from activator to repressor upon hyperosmotic stress // *Cell Death Differ.* – 2018. – Vol. 25, № 11. – P.1938-1951, IF=12.067 (Web of Science).

2. Kaplun D.S., Fok R. E., Korostina V. S., Prokhortchouk E. B. (2019). Kaiso Gene Knockout Promotes Somatic Cell Reprogramming // *Biochemistry (Moscow)*, 2019. – Vol. 84, № 3. – P. 283-290, IF=2.824 (Web of Science).

3. Kaplun D., Starshin A., Sharko F., Ganova K., Filonova G., Zhigalova N., Mazur A, Prokhortchouk E. and Zhenilo S. (2021) Kaiso Regulates DNA Methylation Homeostasis // *International Journal of Molecular Sciences*, 2021. – Vol. 22, article 7587, IF=6.208 (Web of Science).

4. Kaplun D.S., Kaluzhny D.N., Prokhortchouk E.B., Zhenilo S.V. DNA Methylation: Genomewide Distribution, Regulatory Mechanism and Therapy Target // *Acta Naturae*, 2022. – Vol. 14, №4. – P. 4-19, IF=2.204 (Web of Science).

На диссертацию и автореферат поступило 3 дополнительных отзыва, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался тем, что оппоненты являются ведущими специалистами в области метилирование ДНК, а также наличием регулярных публикаций в данной сфере исследований

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-

квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований впервые определены дифференциально метилированные участки генома, изменившие уровень метилирования при нокауте белка Kaiso в мышинных эмбриональных фибробластах. Продемонстрировано влияние белка Kaiso на скорость и эффективность репрограммирования мышинных эмбриональных фибробластов в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

Проведен полногеномный анализ метилирования генома при нокауте гена Kaiso в раковых клетках Saki-1. Уменьшение метилирования участков чаще детектировалось в энхансерах, интронах, 3'UTR, а увеличение - в промоторах и 5'UTR.

Установлено, что нокаут белка Kaiso приводит к снижению метилирования промотора гена TRIM25. Показано, что несумоилированная форма белка Kaiso может способствовать увеличению уровня метилирования ДНК. При экспрессии несумоилированной формы белка Kaiso на промоторе TRIM25 наблюдалось увеличение метилирования и детектировалась потеря активной гистоновой модификации H3K4me3, и появление неактивной -H3K9me3. Деметилирование промотора TRIM25 при удалении Kaiso зависит от экспрессии KLF4 в клеточной линии HEK293.

Установлено, что Kaiso образует комплекс с de novo ДНК-метилтрансферазами 3A/3B с помощью ВТВ домена. Однако Kaiso не образует комплекс с поддерживающей ДНК-метилтрансферазой DNMT1 в клетках HEK293.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Нокаут гена Kaiso приводит к снижению метилирования промоторов генов, вовлеченных в установление и поддержание статуса плюрипотентности клеток, что сопряжено с более эффективным репрограммированием и с увеличением пролиферативной активности Kaiso нокаутных мышинных эмбриональных фибробластов по сравнению с клетками дикого типа.

2. Определены дифференциально метилированные участки генома в клеточной линии Saki-1 при нокауте гена Kaiso. Снижение метилирования чаще детектировалось в энхансерах, интронах, 3'UTR, а увеличение - в промоторах и 5'UTR.

3. Снижение метилирования промотора TRIM25 в клеточной линии HEK293 при нокауте гена Kaiso имеет обратимый характер. Увеличение метилирования промотора TRIM25 в клеточной линии с мутацией сайта сумоилирования

сопровождается появлением неактивной гистоновой модификации H3K9me3 в клеточной линии HEK293.

4. Kaiso образует комплекс с de novo ДНК-метилтрансферазами DNMT3A/3B. Однако Kaiso не образует комплекс с поддерживающей ДНК-метилтрансферазой DNMT1 в клетках HEK293.

На заседании 23.03.2023 диссертационный совет принял решение присудить Каплун Д.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, из них 6 докторов наук по специальности «молекулярная биология», участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 12, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя

диссертационного совета, д.б.н., проф.

Равин Н.В.

Ученый секретарь

диссертационного совета, д.б.н.

Комарова Т.В.