

## ОТЗЫВ

Официального оппонента, кандидата биологических наук, Дмитрия Антоновича Абашкина на диссертацию Кошкиной Дарьи Олеговны «Пионерная функция PARP1 в организации хроматина: структурные перестройки нуклеосом и эффекты ингибиторов PARP», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.1.10 — «Биомеханика и биоинженерия»

В диссертационной работе Д. О. Кошкиной исследована неканоническая, пионерная функция белка поли(АДФ-рибоза)-полимеразы 1 (PARP1) — его способность изменять пространственную структуру нуклеосом в отсутствие разрывов ДНК, в том числе в присутствии транскрипционного фактора p53, рибонуклеопротеинового комплекса dCas9 с направляющей РНК, а также синтетических и природных ингибиторов PARP. Применение методологии резонансного переноса энергии Фёрстера (spFRET) и анализа изменения электрофоретической подвижности ДНК-белковых комплексов в полиакриламидном геле (EMSA) позволило выявить закономерности конформационной динамики нуклеосом, связанной с ДНК-связывающей и каталитической активностью PARP1. Тема исследования актуальна, поскольку PARP1 является одним из главных сигнальных белков повреждения геномной ДНК, а его пионерподобная активность, обеспечивающая доступ регуляторных и редактирующих систем к конденсированному хроматину, до настоящего времени оставалась практически неохарактеризованной. Раскрытие молекулярных механизмов этой активности имеет как фундаментальное значение для понимания регуляции структуры хроматина, так и прикладное — для оптимизации технологий направленного геномного и эпигеномного редактирования на основе систем CRISPR/Cas и для скрининга новых потенциальных ингибиторов PARP.

В данной работе решены следующие задачи: охарактеризовано влияние PARP1 на пространственную организацию нуклеосом, реконструированных на различных ДНК-матрицах и из разных источников гистонов; установлено влияние PARP1 на структуру хроматосом, содержащих линкерный гистон H1.0, и нуклеосом, содержащих гистоновый вариант H2A.Z; оценено влияние PARP1 на взаимодействие регуляторных белков p53 и dCas9 с нуклеосомой; уточнены молекулярные механизмы действия ингибиторов PARP1 на нуклеосомном уровне, а также оценена ингибирующая активность природного соединения ресвератрола. По данным автора, PARP1 универсально реорганизует структуру нуклеосом по всей длине ДНК независимо от белкового состава и посттрансляционных модификаций гистонов, а также последовательности и длины ДНК, причём наиболее выраженный эффект характерен для H2A.Z-содержащих нуклеосом. Показано, что даже в отсутствие каталитической активности PARP1 способен конкурентно вытеснять линкерный гистон H1.0 из хроматосом с короткими (20 п.н.) линкерными участками ДНК. Установлено, что реорганизованные PARP1 нуклеосомы становятся доступной мишенью для dCas9 и p53. Впервые на

нуклеосомной модели проведена прямая сравнительная оценка механизмов действия клинических ингибиторов PARP: для олапариба и талазопариба зарегистрирован эффект траппинга белка; показано, что ресвератрол ингибирует активность PARP1 по иному механизму — снижая его аффинность к нуклеосомной ДНК без индукции траппинга.

Диссертация оформлена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы с подразделами, посвящёнными организации и регуляции хроматина эукариот, белку PARP1 и его ингибиторам, белку p53 и применению систем CRISPR/Cas в биоинженерии, главы материалов и методов, главы результатов и их обсуждения, заключения, основных результатов и выводов, списка используемых сокращений и списка литературы (391 источник). Работа изложена на 156 страницах машинописного текста, содержит 54 рисунка и 3 таблицы.

В ходе изучения диссертационной работы у официального оппонента возникли следующие вопросы:

1. В какой мере молярные соотношения белков и других молекул (НАД<sup>+</sup>, олапариб, талазопариб, велипариб, ресвератрол), использованные в экспериментальной системе, соответствуют их соотношениям в клетке в присутствии и в отсутствие разрывов ДНК?
2. Имеет ли практическую значимость создание гибридных (фьюжн) белков на основе ферментов семейства Cas (Cas9, dCas9, Cas12a/Cpf1) с белком PARP1 или его отдельными доменами; если да, то использование каких именно доменов PARP1 представляется наиболее целесообразным?
3. Каким образом данные о геномном распределении белка PARP1 могут быть учтены при выборе целевого региона для геномного и эпигеномного редактирования?

По содержанию (оформлению) диссертационной работы у официального оппонента имеются критические замечания:

1. В экспериментах с транскрипционным фактором p53 использован изолированный ДНК-связывающий домен (p53DBD), тогда как ряд выводов и формулировок диссертации оперирует понятием полноразмерного белка p53.
2. В диссертации используются термины «аффинность» и «средство» PARP1 к нуклеосомной ДНК, в том числе в основных выводах (вывод 7 — ресвератрол «снижает аффинность белка к нуклеосомной ДНК»). Вместе с тем количественные параметры связывания — константы диссоциации либо кажущиеся константы из титрационных серий — в работе не приводятся, а соответствующие заключения опираются на качественные сравнения.

3. Текст диссертации содержит ряд опечаток и редакционных погрешностей, в том числе в ключевых разделах (в Заключение — повтор слова «структуры», написание «лнкерная», «для для»; в основных выводах — «скриннинга»).

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.1.10 «Биомеханика и биоинженерия» (по биологическим наукам), а также критериям, определённым пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении учёных степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

Содержание диссертационной работы представлено в семи научных работах, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М. В. Ломоносова, в том числе в трёх статьях в международных журналах с высоким импакт-фактором. Д. О. Кошкина является первым автором в трёх публикациях, вторым автором — в двух и соавтором — в остальных.

Таким образом, соискатель Кошкина Дарья Олеговна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.1.10 «Биомеханика и биоинженерия».

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук,

Научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Российский научный центр психического здоровья»

Абашкин Дмитрий Антонович

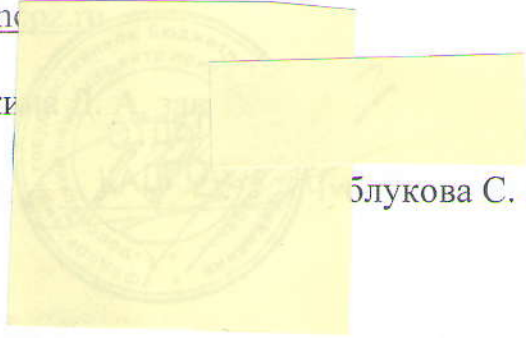


19.05.2026

Адрес организации: 115522, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 34;  
тел.: +7(495)109-03-93; e-mail: [nepz@nc](mailto:nepz@nc)

Подпись научного сотрудника Абашкина

Заведующая отделом кадров



Блукова С. А.