

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Вьюшкова Владимира Сергеевича
на тему: «Влияние когезина на пространственную динамику
интактного и поврежденного хроматина»
по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Вьюшкова В.С. посвящена одной из важнейших проблем молекулярной биологии - изучению организации и функционирования генома. В последние десятилетия в этой области науки были получены революционные результаты, которые качественно поменяли представления о самых базовых принципах организации хроматина в составе интерфазного ядра. В частности, стало понятно, что хроматин устроен намного менее упорядоченно и намного более динамично, чем это представлялось ранее. Важную роль в организации хроматина играют когезиновые комплексы, которые отвечают за процесс экструзии хроматиновых петель в интерфазе и за когезию хроматид после репликации и в митозе. Причем, даже протяженные хроматиновые петли, образуемые при участии когезинов, являются короткоживущими и динамичными. Как следствие, анализ динамики хроматина становится одной из ключевых проблем молекулярной биологии. Однако уровень развития технологии прижизненных наблюдений за структурой хроматина пока еще недостаточен, чтобы решить эти вопросы быстро и точно. Именно этому и посвящена работа Вьюшкова В.С., ее актуальность не вызывает сомнения.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту,
научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации,
их достоверность и новизна

Выносимые на защиту положения хорошо обоснованы полученным экспериментальным материалом, подробно и квалифицированно описаны и проиллюстрированы. В диссертации подробно описано научное значение и практические следствия проведенных исследований. Достоверность и новизна работы не вызывают сомнения. По материалам диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых журналах, причем, в трех из них Вьюшков В.С. является первым автором.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 210 страницах и состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение результатов, Заключение, Список сокращений и условных обозначений, Список литературы, Приложения. Рукопись содержит 63 рисунка и 3 таблицы. Список литературы включает 328 источников.

Введение к диссертации написано очень четко и в нем сделан акцент на актуальность поставленной задачи. Автор очень профессионально и амбициозно формулирует цель и задачи исследования в широком контексте современного состояния проблемы. Введение содержит все необходимые элементы, которые написаны подробно и четко.

Обзор литературы написан достаточно необычно, но крайне удачно. Автор постепенно движется от общего описания биологической проблемы к детальной характеристике тех частных тем, которые, собственно, и составляют предмет его исследования. В результате, хотя Обзор и имеет очень большой объем, он представляется необходимым и полностью подчиненным задачам конкретного исследования. Также обращает внимание очень подробный стиль, который, хотя также ведет к увеличению объема, но делает текст легко читаемым.

В разделе Материалы и методы подробно описаны все проведенные процедуры, хотя имеются отдельные недостатки (см. соответствующий раздел отзыва).

В разделе Результаты последовательно описаны следующие данные, полученные автором в ходе выполнения диссертационной работы:

1. Описано получение и приведена характеристика линии клеток с индуцированной ауксином деградацией RAD21.
2. Приведены данные по проведенной автором адаптации системы визуализации хроматиновых локусов CRISPR-Sirius к использованию в клетках НСТ116.
3. Затем с использованием разработанных инструментов автор характеризует подвижность двух локусов и влияние когезинов на эту подвижность. Показано, что деплеция белка RAD21 приводит к увеличению локальной пространственной динамики локуса в третьем интроне гена TMEM242 (локус C6) и субтеломерного локуса на хромосоме 19 (локус IDR3). Также автор проводит достаточно интересный сравнительный анализ подвижности одного из локусов в реплицированном и нереплицированном хроматине. Удивительно, но эффект деплеции когезина был одинаков в обоих проанализированных случаях (увеличение подвижности).
4. Заключает раздел описание влияния деплеции когезина на динамику фокусов репарации.

В разделе Обсуждение результатов подробно анализируются полученные результаты.

В Заключении представлено сжатое описание значимости проведенного исследования.

Выводы соответствуют поставленным задачам.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.3. Молекулярная биология (по биологическим наукам), а именно следующим ее направлениям: п. 2. Репликация и репарация повреждений ДНК. п. 6. Организация генетического материала в клеточном ядре, хроматин, структурно-функциональная компарментализация клеточного ядра. Организация генетического материала в клетках прокариот и в вирусах. п. 11. Молекулярные основы патологий, в том числе канцерогенеза, иммунодефицитов, аутоиммунных, нейродегенеративных и других заболеваний животных и человека. п. 13. Генная, белковая и клеточная инженерия, геномное конструирование. п. 14. Визуализация макромолекул и макромолекулярных комплексов в живых клетках. Изучение динамики внутриклеточных процессов в норме и при патологии.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат аккуратно оформлен, его текст отражает содержание диссертации, а также основные положения и выводы диссертационного исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Общая оценка этой работы самая положительная, причем, это относится как к самому проведенному исследованию, так и к тексту диссертации. Исследование проведено методично и оформлено в диссертацию аккуратно.

У меня нет никаких принципиальных возражений к этой работе, однако можно сделать несколько частных замечаний:

1. При описании методики проведения работы автор неоднократно упоминает о написанных им программах, однако сами программы в диссертации не приведены.

2. При описании полученной линии клеток с индуцированной ауксином деграцией RAD21 автор отмечает, что в этих клетках экспрессия белка была подавлена в фоновом режиме. Уровень этого снижения не ясен (обсуждаются проблемы с антителами), но автор приводит данные по определению уровня мРНК, где уже наблюдается двукратное снижение. Не ясно, почему это снижение не приводит ни к каким эффектам на физиологию клетки.
3. Для анализа подвижности хроматина автор выбрал интрон гена с низким уровнем транскрипции. Не могут ли разные участки генома вести себя по-разному? Также, учитывая невысокий уровень транскрипции, можно предполагать близость к ядерной оболочке, что может влиять на подвижность локуса.
4. Для доказательства того, что выявляются именно те локусы, которые запланировано изучать, следовало провести их идентификацию с помощью FISH. Представленные данные вызывают сомнения, так как на некоторых фотографиях локус С6 располагается в теломере, а в других вдали от нее (рис. 53). Однако тап препаратов (фиксация *in situ*) не позволяет точно установить локализацию.

Заключение

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 1.5.3. Молекулярная биология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на

соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Вьюшков Владимир Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

заведующий лабораторией ультраструктуры клеточного ядра

Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени

А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Московский

государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Шеваль Евгений Валерьевич

23.03.2026

Контактные данные:

тел.: +7 (495) 939-53-59, e-mail: fxb@genebee.msu.su

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация: 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Адрес места работы:

119234, г. Москва, тер. Ленинские горы, д. 1, стр. 40

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени

А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени

М.В. Ломоносова

Тел.: +7 (495) 939-53-59; e-mail: fxb@belozerskv.msu.su

Этот текст
подтверждает
отдела кадров

удостоверяю.
У. М. Лазарева