

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Валиевой Марии Евгеньевны «Влияние белкового комплекса FАСТ (facilitates chromatin transcription) на структуру хроматина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

ДНК в клетках эукариот организована в виде хроматина, основную долю которого составляют нуклеосомы. Для функционирования хроматина важно положение и плотность нуклеосом на ДНК. Эти параметры регулируют гистоновые шапероны, одним из которых является комплекс FАСТ. Данный комплекс консервативен у эукариот и играет важную роль в поддержании структуры хроматина. Несмотря на важность данного комплекса, до сих пор не было показано непосредственного взаимодействия FАСТ с нуклеосомной ДНК.

Валиева М.Е. в своем исследовании показывала, что комплекс FАСТ напрямую взаимодействует с нуклеосомами и способен к АТФ-независимому обратимому раскручиванию нуклеосомной ДНК. Автор также смогла подтвердить полученные ранее в исследованиях *in vivo* данные о влиянии мутации в субъединице Spt16 на работу комплекса.

Также в обсуждаемой работе было показано различие между комплексами FАСТ дрожжей и человека. Человеческий комплекс FАСТ не способен реорганизовывать нуклеосому без дополнительных факторов. Кроме того человеческий комплекс FАСТ обладает стабилизирующей активностью, что подтверждает многофункциональность данного шаперона.

Хотя работа, описанная в автореферате, выполнена на высоком уровне, в тексте автореферата присутствуют опечатки, грамматические и стилистические неточности. Но это не снижает общей оценки работы.

Работа Валиевой Марии Евгеньевны выполнена качественно с научной и методической точки зрения и полностью соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, утвержденным в Положении о присвоении ученых степеней МГУ имени Ломоносова.

Цели, поставленные в работе, достигнуты. Достоверность и обоснованность полученных данных не вызывает сомнений. Результаты работы были опубликованы в рецензируемых научных журналах и представлены на российских и международных конференциях. Я считаю, что автор данной работы заслуживает присуждение степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Даю свое согласие на обработку персональных данных и внесении информации в систему ИСТИНА.

Золотарев Николай Александрович,

кандидат биологических наук,

научный сотрудник группы Молекулярной организации генома

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт биологии гена Российской академии наук

119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

Тел.: 8 (499) 135-99-06

E-mail: [nickolay.zolotarev@yandex.ru](mailto:nickolay.zolotarev@yandex.ru)

8 декабря 2017



ПОДПИСЬ Золотарева Н. А.  
ЗАВЕРЯЮ nas  
Ученый секретарь ИБГ РАН Набирочкина Е.Н.

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Валиевой Марии Евгеньевны «Влияние белкового комплекса FACT (*facilitates chromatin transcription*) на структуру хроматина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Автореферат Валиевой М. Е. является кратким изложением фундаментальной работы, посвященной исследованию шаперонов FACT дрожжей и человека, проделанной соискателем в ходе выполнения кандидатской диссертации. В автореферате приведены краткие сведения, известные ранее о комплексе FACT, хорошо обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы задачи и цели работы, кратко описаны основные полученные результаты, представлены выводы.

Работа Валиевой М. Е. посвящена исследованию взаимодействия шаперона гистонов FACT с мононуклеосомами. Актуальность выбранной темы подтверждается тем, что данный комплекс найден у всех эукариот, а также является довольно консервативным. Кроме того, автором приведены сведения о том, что шаперон FACT является мишенью для противоопухолевых соединений кураксинов. Очевидно, что исследования, направленные на изучение структурных перестроек хроматина представляют собой большую научную ценность. Важно отметить, что анализ структурных перестроек хроматина является довольно сложным с методологической точки зрения. После ознакомления с работой Валиевой М.Е. создается представление об использованных подходах, а также о полученных с помощью них данных. Автором получена уникальная система, с позиционированной нуклеосомой, содержащая флуоресцентные метки в таких позициях, которые наиболее оптимальны для отслеживания структурных перестроек методом FRET. Для дрожжевого комплекса показана его роль в АТФ-независимом разворачивании нуклеосомы, а также, что очень важно для верификации получаемых результатов, корреляции *in vitro* и *in vivo*. Для человеческого FACT показано, что он способен к АТФ-независимой реорганизации нуклеосомы при избытке дрожжевого HMG белка, либо в присутствии противоопухолевых препаратов кураксинов. Также исследованы мутантные белки FACT человека.

После детального ознакомления с работой Валиевой М.Е. становится очевидным, что исследования в данной области еще приведут к важным открытиям, в частности, в то время как Мария Евгеньевна показала АТФ-независимую реорганизацию нуклеосом дрожжевым комплексом FACT, поиск соответствующего фактора человека, способствующего реорганизации нуклеосом в присутствии человеческого FACT, является важным направлением исследований. Также стоит отметить изящество созданной автором системы, которая может быть использована для продолжения этого и других важных исследований в данной области.

Из недостатков автореферата хотелось бы отметить присутствие небольшого количества опечаток, а также, что является более существенным, недостаточность

текстового описания проведенных экспериментов. Несмотря на наличие большого количества рисунков в количестве 12 штук, прекрасно иллюстрирующих основные результаты работы, непосредственно описание экспериментов и их результатов, а также возможные интерпретации являются довольно сдержанными, что несомненно, не снижает качества работы, а лишь способствует появлению желания ознакомиться с полным текстом диссертации и статьями автора.

Кандидатская диссертация Валиевой М. Е. представляет ценность как для фундаментальной молекулярной биологии, так и для прикладной области исследования механизма действия противоопухолевых препаратов кураксинов и поиска новых соединений с аналогичными мишенями.

Работа Валиевой Марии Евгеньевны выполнена качественно с научной и методической точки зрения и полностью соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, утвержденным в Положении о присвоении ученых степеней МГУ имени Ломоносова.

Даю свое согласие на обработку персональных данных и внесении информации в систему ИСТИНА.

**Есюнина Дарья Михайловна,**

**кандидат биологических наук,**

**старший научный сотрудник Лаборатории молекулярной генетики**

**микрорганизмов Института молекулярной генетики**

**Подпись Есюниной Д.М. удостоверяю**

**ученый секретарь ИМГ РАН**

**к.б.н. Андреева Л.Е.**



**08.12.2017**

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации Валиевой Марии Евгеньевны

**«Влияние белкового комплекса FACT (facilitates chromatin transcription) на структуру хроматина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология**

Исследовательская работа Валиевой М.Е. посвящена изучению актуального вопроса молекулярной биологии. Объектом исследования является многофункциональный и консервативный в ходе эволюции фактор – шаперон гистонов FACT. А именно, в автореферате описано исследование двух видов данного комплекса – FACT дрожжей и человека. Выбор объектов является обоснованным и стандартным для современной молекулярной биологии шаперонов гистонов. Собственно, изучение свойств FACT проводили в *in vitro* системе, основанной на моонуклеосомных матрицах – октамер гистонов был строго позиционирован на ДНК, длиной 147 пар нуклеотидов. В ДНК были введены флуоресцентные метки Су3 и Су5, которые после укладки ДНК на октамере гистонов, могли взаимодействовать по механизму Ферстеровского резонансного переноса энергии. Используемая система оказалась чувствительной к перестройкам в нуклеосоме и эффективной для изучения свойств FACT.

Основным результатом исследовательской работы Валиевой М. Е. является открытие масштабного АТФ-независимого раскручивания нуклеосомной ДНК. Дрожжевой комплекс FACT (yFACT) состоит из трех субъединиц – Spt16 (suppressor of Ty16), Pob3 (Poll binding protein 3) и ДНК-связывающего белка Nhr6 (Non histone protein 6). Человеческий FACT (hFACT) включает в себя два белка – Spt16 и SSRP1 (structure specific recognition protein 1). В рецензируемой работе показано, что для раскручивания нуклеосомной ДНК дрожжевым комплексом FACT необходим избыток субъединицы Nhr6 над димером Spt16/Pob3 в системе. Также показано, что человеческий комплекс обладает аналогичным свойством: Spt16 и SSRP1 реорганизуют нуклеосомную ДНК в присутствии дрожжевого белка Nhr6. Данное наблюдение является важным в плане утверждения консервативности реорганизующей активности FACT в ходе эволюции. Также

hFACT оказался способным разворачивать нуклеосомную ДНК в присутствии лекарственного препарата CBL0137. Последний результат является важным для объяснения поведения препаратов кураксинов в ядре человеческой клетки в целом.

Также в исследовательской работе установлены корреляции полученных *in vitro* данных по разворачиванию нуклеосомной ДНК с наблюдениями *in vivo*, которые были сделаны ранее.

Отдельной частью работы является описание стабилизирующей нуклеосому активности hFACT. Различное поведение шаперона, в зависимости от присутствия в системе дополнительных факторов, хорошо согласуется с показанной ранее многофункциональностью комплекса. А именно, данный шаперон участвует как в стабилизации, так и в дестабилизации хроматина.

В целом работа Валиевой Марии Евгеньевны выполнена качественно с научной и методической точки зрения и полностью соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, утвержденным в Положении о присвоении ученых степеней МГУ имени Ломоносова

Даю свое согласие на обработку персональных данных и внесении информации в систему ИСТИНА.

**Герасимов Евгений Сергеевич,**

**кандидат биологических наук,**

**научный сотрудник кафедры молекулярной биологии**

**ФГБОУ ВО «Московский государственный университет**

**имени М.В. Ломоносова»**



*Герасимова Е.С.*