

ОТЗЫВ

о магистерской диссертации Вихниной Марии Валентиновны на тему
"Изучение роли транскрипционных факторов семейства NF1 в формировании структуры хроматина регуляторной области гена триптофандиоксигеназы крысы методом иммунопреципитации"

Рецензируемая работа представляет собой фундаментальное научное исследование в области изучения механизмов регуляции транскрипции. Предметом исследования стали транскрипционные факторы семейства NF1, которые, согласно рассматриваемой гипотезе, участвуют в формировании предустановленной структуры хроматина, состояния компетенции к транскрипции. В отношении гормон-чувствительных генов, это, вероятно, может иметь место независимо от гормональной стимуляции. Работа была направлена на изучение возможности тканеспецифического взаимодействия факторов семейства NF1 с регуляторной областью гена триптофандиоксигеназы, что может быть обусловлено различным уровнем экспрессии гена в разных тканях.

Работа построена по традиционному плану, включает в себя разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список литературы». Работа изложена на 73 страницах, иллюстрирована 18 рисунками и 7 таблицами. В списке литературы содержится 177 ссылок на литературные источники на русском и английском языках, значительная доля из которых – работы последних 5 лет.

В разделе «Введение» обосновывается актуальность темы работы, формулируются цель и задачи исследования. Начиная с этого раздела и на протяжении всего текста работы обращает на себя внимание четкость и логичность изложения, что существенно облегчает понимание материала читателем. В качестве замечания можно обратить внимание на то, что во многих ссылках в тексте работы отсутствуют указания на наличие соавторов («et al.», «и др.») для публикаций, написанных коллективом авторов.

В раздел «Обзор литературы» подробно рассматриваются современные научные представления о ремоделировании хроматина в процессе регуляции транскрипции, а также об участии транскрипционных факторов в реализации тканеспецифической экспрессии генов. Немалое внимание, в частности, уделено транскрипционным факторам семейства NF1, в том числе данным об их структуре, участии в ДНК-белковых и белок-белковых взаимодействиях, активации или ингибировании экспрессии генов.

Для решения поставленных задач автор использовал широкий спектр молекулярно-биологических методов. Поскольку материалом исследования служил хроматин, полученный методом иммунопреципитации, важное место в работе занимает группа необходимых для этого методов, включая методы выделения ядер, формирования ДНК-белковых сшивок при обработке формальдегидом, экстракции и ультразвуковой

фрагментации ДНК и собственно иммуноосаждения с использованием моноклональных антител к NF1. Также в работе используются определение концентрации ДНК флуориметрическим методом, электрофорез ДНК в агарозном геле, а основные результаты получены при помощи метода ПЦР в реальном времени. Все использованные методы описаны в тексте работы достаточно подробно.

В ходе выполнения работы автор уделил большое внимание оптимизации метода ПЦР в реальном времени, что позволило впоследствии получить принципиально важный результат. Показано, что полученные методом иммунопреципитации фрагменты хроматина, специфически связывающие факторы семейства NF1, включают участки регуляторной области триптофандиоксигеназы, причем в материале из клеток печени, где данный ген транскрипционно активен, их содержание достоверно выше по сравнению с материалом из клеток почек, где ген репрессирован. Таким образом, полученные результаты согласуются с гипотезой об участии факторов семейства NF1 в формировании и поддержании особой структуры хроматина регуляторных областей генов, задействованных в реализации тканеспецифических программ.

По ходу ознакомления с работой возникли следующие вопросы:

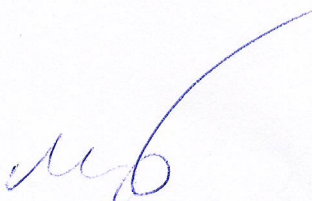
1) Судя по результатам ПЦР, белок NF-1 взаимодействует не только с регуляторной областью гена триптофандиоксигеназы, но и с референсной последовательностью гена β -актина, с которой, вроде бы, взаимодействовать не должен. Чем можно объяснить такие результаты?

2) Второй вопрос связан с перспективой продолжения исследований. Поскольку рассматриваемая автором гипотеза предполагает связывание факторов NF1 независимо от гормональной стимуляции, не имеет ли смысл исследовать также материал, полученный после такой стимуляции?

По результатам работы автор делает 3 вывода. Выводы корректны и логически вытекают из полученных результатов.

Подводя итог, можно отметить, что магистерская диссертация Вихниной М.В. производит положительное впечатление и, несомненно, заслуживает оценки "отлично".

Рецензент
к.б.н., доцент каф. биохимии СПбГУ



Берлов М.Н.