

РЕЦЕНЗИЯ

на магистерскую диссертацию Черновой И.А. на тему: «Деплеция линкерных гистонов H1 из хроматина под влиянием растительных ДНК-тропных полифенолов», магистерская программа «Молекулярная и клеточная биотехнология»

Влияние окружающей среды и образа жизни на частоту возникновения и характер онкологических заболеваний было продемонстрировано многочисленными исследованиями эпидемиологов и экспериментальных онкологов. В частности, было установлено, что особенности питания и, соответственно, поступление в организм определенных ксенобиотиков коррелируют с риском развития онкозаболеваний. Для большой группы фитонутриентов, а именно для фенольных соединений, ранее были выявлены антиканцерогенные свойства в экспериментах на животных с химически индуцированными опухолями. Являясь ДНК-тропными соединениями, полифенолы способны взаимодействовать непосредственно с хроматином, однако до сих пор механизмы действия до конца не изучены. В связи с этим работа Черновой И.А. направлена на изучение влияния ряда растительных полифенолов на структуру хроматина и представляется актуальной.

Магистерская диссертация Черновой И.А. посвящена изучению перераспределения вариантов линкерного гистона H1.2 и H1.4 между двумя ядерными фракциями (нуклеоплазматической и хроматин-связанной) под воздействием таких растительных полифенолов, как эпигаллокатехина галлат, кемпферол, апигенин и тимохинон. Кроме того, поскольку процесс компактизации ДНК непосредственно связан с прохождением клеточного цикла, в работе рассмотрен вопрос, могут ли данные полифенольные соединения, используемые в нетоксических концентрациях, выступать в качестве блокаторов клеточного цикла.

Рецензируемая работа построена по стандартному плану и содержит такие разделы как введение, обзор литературы, материалы и методы,

результаты и их обсуждение и выводы. Во введении отражена актуальность изучаемой проблемы, сформулированы цель работы и определены задачи, решение которых необходимо для её достижения. В обзоре литературы содержатся сведения об уже изученных механизмах действия большого ряда природных ДНК-тропных соединений, в частности о характере их взаимодействия непосредственно с ДНК и эпигенетическом влиянии, а также были подробно представлены современные данные о структуре хроматина, в особенности – о структурных и функциональных особенностях линкерных гистонов и их вариантах. Данные, представленные в обзоре литературы, отличается хорошей систематизацией, особенно удачно написан раздел про взаимодействие полифенолов с различными сигнальными путями в опухолевой клетке, который отличается емкостью, легкостью слога и информативностью. Следует также отметить сбалансированность всех подразделов обзора литературы. Прделанная Черновой И.А экспериментальная работа включает две основные части. В первой части были изучены эффекты растительных полифенолов при их использовании в нетоксической концентрации и концентрации, вызывающей гибель не более 20% клеток (IC_{20}), а также при обработке клеток HeLa в течении различных интервалов времени, а именно, 1 час, 6 часов и 24 часа. Вторая часть включала анализ влияния растительных полифенолов на клеточный цикл клеток HeLa. Анализ был проведен как на несинхронизированной популяции клеток, так и синхронизированных с помощью двойного тимидинового блока популяциях, в которых после снятия тимидинового блока через определенные интервалы времени основная часть клеток находилась в определенной фазе клеточного цикла. Полученные в ходе работы данные в основном подтверждают, что исследуемые полифенолы действительно оказывают влияние на структуру хроматина, но не выступают в качестве блокаторов прохождения клетками HeLa клеточного цикла.

Материалы, представленные в экспериментальной части работы, свидетельствуют о том, что автор овладел многими современными методами

исследований в области биотехнологии, такими как работа с культурами эукариотических клеток, метод оценки жизнеспособности клеток МТТ, метод выделения ядерных белковых фракций, метод Вестерн-блоттинг и метод проточной цитофлуориметрии, а также методами математической статистики для обработки данных.

Тем не менее, работа не лишена недостатков:

1. В качестве наиболее существенного недостатка следует указать то, что количество экспериментов, проведенное при изучении эффектов тимохинона, одного из 4-х рассматриваемых соединений, недостаточно для демонстрации статистически значимых различий между контрольными клетками и обработанными этим соединением клетками, что было вызвано невозможностью их выполнения из-за особых условий работы весной 2020 года. Автору удалось продемонстрировать лишь тенденцию к снижению содержания линкерных гистонов в хроматин-связанной фракции. Тут же стоит отметить, что в работе не приведены данные о том статистическом методе, который использовал автор.
2. Кроме того, хотелось бы отметить, что часть исследования, посвященная анализу влияния полифенолов на клеточный цикл, могла бы быть выполнена с использованием альтернативных методов, позволяющих получить более объективные количественные данные. В работе был использован подход, позволяющий продемонстрировать лишь общие тенденции.
3. В работе не указано, какой растворитель использовался для исследуемых полифенольных соединений. В том случае, если это был ДМСО, то в МТТ-тесте нужно оценивать и его токсичность, т.к. она может вносить вклад в полученные результаты.
4. В работе хотелось бы увидеть более развернутое обсуждение полученных результатов.

Однако высказанные замечания следует больше трактовать как пожелания по продолжению исследования в будущем.

Подводя итог, можно констатировать:

- квалификационная работа Черновой И.А. посвящена изучению актуальной проблемы;
- представленный в работе обзор литературы свидетельствует о высокой эрудиции автора и о глубоком изучении автором опубликованных данных по теме исследования;
- полученные экспериментальные данные имеют как фундаментальное значение для развития наших представлений о влиянии ксенобиотиков на структуру хроматина, так и прикладное значение в плане изучения перспективности использования растительных полифенолов в профилактике канцерогенеза;
- выводы, сделанные автором, полностью соответствуют полученным автором результатами и хорошо согласуются с опубликованными данными по изучению нового антиканцерогенного соединения курасксина CBL0137, которое относится к малым ДНК-тропным молекулам;
- работа написана хорошим научным языком, логично выстроена, и соответствует требованиям, предъявляемым к магистерским диссертациям.

Таким образом, представленная магистерская диссертация заслуживает оценки «отлично», а автор Чернова И.А. – присвоения квалификации магистра по направлению «Молекулярная и клеточная биотехнология».

Рецензент:

Старший научный сотрудник
Лаборатории генетики опухолевых клеток
ФГБУ "НИМЦ онкологии им. Н.Н.Блохина"
Минздрава России
к.м.н.

Н.И. Моисеева