

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Жиронкиной Оксаны Андреевны «Изучение механизмов роста ядерной ламинаы в интерфазе», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность темы исследования.

Изучение структурной организации клеточного ядра является важной и актуальной задачей современной клеточной и молекулярной биологии. Сложная, строгоупорядоченная организация ядра является важнейшим фактором, обеспечивающим эффективное функционирование генома. В работе О.А.Жиронкиной рассматривается один из аспектов организации клеточного ядра, а именно структура и динамика роста ядерной ламинаы в интерфазе. Известно, что белки-ламинаы локализуются как на периферии клеточного ядра (на границе хроматина и внутренней ядерной мембраны), так и в нуклеоплазме. Они выполняют не только структурную роль, обеспечивая механическую прочность ядерной оболочки, но и участвуют в процессах транскрипции, репликации, репарации и ряде других. Актуальность исследований ламинаы связана также и с наличием заболеваний, связанных с дефектами белков-ламинонов – ламинопатий. В связи с вышеизложенным, работа О.А.Жиронкиной, посвященная изучению структурных и молекулярных аспектов динамики роста ламинаы в клеточном цикле, является важной и актуальной.

Научная новизна исследований и полученных результатов.

В работе получен ряд новых данных, позволяющих глубже понять механизм образования и функционирования ламинаы. Во-первых, О.А.Жиронкина показала, что рост ядерной оболочки происходит равномерно на протяжении всей интерфазы. При этом микродоменная организация и степень полимеризации ламинаы на стадии интерфазы остаются неизменными. Во-вторых, функционирование прикрепленного к оболочке хроматина не вызывает изменений в микроархитектуре ламинаы. Более того, репликация периферического гетерохроматина не требует открепления хроматина от ядерной оболочки, и не вызывает локальной деполимеризации ламинаы вблизи фокусов репликации прикрепленного к ядерной оболочке хроматина. В-третьих, показано, что встраивание ламина А в ламиновою сеть не зависит от наличия контактов хроматина с ядерной оболочкой. Напротив, как показывают данные О.А.Жиронкиной, скорость встраивания

ламина В в ламинальную сеть значительно выше в S фазе, когда происходит репликация хроматина. В-четвертых, показано, что ламина является достаточно пластичной структурой и способна менять свою конфигурацию в пространстве клеточного ядра. На основании результатов экспериментов автором предложена модель встраивания ламин А и В типов в ламину, учитывающая влияние новосинтезированных ламин-ассоциированных доменов хроматина на скорость встраивания ламина В1.

Достоверность результатов и обоснованность выводов.

Выводы, сделанные в диссертационной работе О.А.Жиронкиной, основаны на результатах тщательно выполненных экспериментов. Экспериментальные подходы включали в себя разнообразные методы микроскопии: флуоресцентную, конфокальную сканирующую лазерную микроскопию, электронную. Особо следует отметить использование в исследованиях нового современного метода микроскопии с суперразрешением (SIM) и корреляционной оптической и электронной микроскопии. Для анализа белков был использован метод электрофореза с Вестерн-блоттингом. Для решения поставленных задач О.А.Жиронкина использовала различные цитологические методы, а также были получены различные генетические конструкции. Практически все эксперименты выполнены лично автором. Результаты исследования докладывались на двух Всероссийских и пяти международных конференциях. Представленные в диссертации микрофотографии и графики, отражающие результаты экспериментов, не вызывают сомнений. Выводы обоснованы и соответствуют задачам диссертации.

Практическая значимость полученных результатов.

Полученные в работе результаты имеют в первую очередь значение для решения фундаментальных вопросов клеточной биологии, связанных с организацией и функционированием ламины, взаимосвязью структур хроматина и ламины и, в более широком аспекте, с организацией клеточного ядра в целом. Однако полученные результаты могут быть полезны и для задач практической медицины, в частности, для поиска новых направлений защиты клеток от старения, лечения ламинопатий и для противоопухолевой терапии.

Содержание работы.

Диссертация написана по стандартному плану, содержит 140 страниц текста и 39 рисунков. Диссертация состоит из следующих глав: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений». Список литературы включает 199 работ. Кроме того, в трех приложениях приведены плагины, использованные для компьютерной обработки результатов.

Во «Введении» О.А.Жиронкина описывает цель работы, приводит список задач, которые планировалось решить в данном исследовании, а также кратко перечисляет новые результаты, которые были получены.

В литературном обзоре автор дает подробный анализ современного состояния проблемы. Обзор написан очень четко, ясно, понятно. Автором приводятся данные по строению молекул ламинов, рассмотрены общие сведения по организации ядерной оболочки и современные модели организации ламин. Подробно обсуждены важные вопросы о связи ламин и хроматина, об участии белков-ламинов в процессах транскрипции, репликации, репарации. Кроме того, описаны медицинские патологии, наблюдающиеся при изменениях белков-ламинов в клетке.

В «Материалах и методах» подробно описаны методики, использованные автором в работе. Следует особо отметить очень широкий набор цитологических, микроскопических и биохимических методов, использованных автором для исследований. Особый интерес у меня вызвало использование О.А.Жиронкиной, наряду со ставшими уже традиционными и привычными видами микроскопии (флуоресцентной, конфокальной, электронной) метода SIM - микроскопии с высоким разрешением. Этот подход, появившийся сравнительно недавно, позволяет значительно улучшить разрешение по сравнению с конфокальной микроскопией, но требует высокотехнологичного современного оборудования. Работа О.А.Жиронкиной является одним из первых исследований, выполненных в России с использованием SIM и, вследствие этого, представляет и методологический интерес.

В диссертации также широко использованы компьютерные методы обработки изображений, в том числе с использованием плагинов, написанных автором для программ ImageJ и CellProfiler. Полагаю, что эти плагины могут представлять интерес и для других исследователей, занимающихся цитологическими исследованиями. Автор владеет всеми описанными методами, все основные эксперименты выполнены лично автором.

В первой главе «Результатов» автор определяла скорость роста клеточной оболочки в интерфазе. Для этого были использованы два разных метода: метод высокопроизводительного микроскопического скрининга, позволяющий одновременно проводить анализ большого числа клеток, и прижизненный анализ роста ядра, который проводился на индивидуальных клетках СПЭВ, экспрессирующих ламин A-GFP. Принципиальный вывод, полученный с помощью этих методов, одинаков: по данным автора, рост ядерной оболочки происходит равномерно на всех стадиях интерфазы. Полученные с помощью обоих методов результаты дают возможность выявить достоинства и недостатки каждого из использованных методов для анализа роста ядерной оболочки, что, на мой взгляд, представляет методологический интерес. Так, несмотря на большую выборку при высокопроизводительном скрининге, в S фазе его использование дает явно меньше информативной информации о скорости роста

ядерной оболочки, чем анализ индивидуальных клеток. В частности, аппроксимировать линейной функцией экспериментальные точки, представленные на рис. 15, можно лишь с большой натяжкой. Поэтому, естественно, автор вывод об одинаковой скорости роста ядерной оболочки на разных стадиях S фазы делает в первую очередь на основании анализа индивидуальных клеток.

Для подробного анализа этапов S фазы О.А.Жиронкина использовала количество репликативных фокусов в ядре. Оно менялось от 20-31 до 1-9 фокусов на клетку. Однако как проводился этот анализ, не указано. Следовало бы хотя бы кратко описать эту процедуру, поскольку автор сама указывает на стр 63, что «использованные параметры получения изображений (какие? –В.П.) не позволяют надежно идентифицировать все репликативные фокусы, особенно в ранней S фазе».

На стр.64 автор указывает, что при анализе индивидуальных клеток площадь ядра увеличивалась примерно на 60%, а не на 100% (рис. 16), и объясняет это увеличением плотности популяции клеток в ходе эксперимента. Однако на рис. 14а (высокопроизводительный скрининг клеток 3Т3) площадь ядра увеличивалась на 100%/ Как различались плотности культур в этих экспериментах? И есть ли данные о неизменности толщины клеточных ядер на стадии интерфазы у обеих исследованных культур?

Следующая глава диссертации посвящена изучению структуры ламины на протяжении интерфазы. Автором показано, что ламина имеет микродоменную структуру. Использование микроскопии со структурированным освещением SIM и электронной микроскопии позволило О.А.Жиронкиной сделать важный вывод о том, что микродомены ламины образованы не одним уникальным типом ламины, а комбинацией нескольких типов в разных соотношениях. В качестве замечания хотел бы отметить, что автору надо было в тексте диссертации прямо указать, каковы размеры микродоменов ламины и какое число пикселей изображения приходится на один микродомен, чтобы можно было оценить точность компьютерного анализа.

На стр 68 автор указывает, что в отличие от результатов, полученных с помощью SIM, на электронномикроскопических препаратах «не обнаружили в составе ядерной оболочки протяженных (более 200нм) зон, полностью свободных от ламина А или В...». О.А.Жиронкина полагает, что разница в результатах оптической и электронной микроскопий вызвана большей чувствительностью и разрешением электронной микроскопии. С этим нельзя не согласиться. Однако, на мой взгляд, автор слишком строго интерпретирует данные рис 17. Действительно, на рис 17 а-в есть участки, которые воспринимаются как участки без метки. Однако на денситограмме (рис 17г) видно, что практически везде, кроме точек ~9.8 мкм, ~ 15.6 мкм, 18.1 мкм есть флуоресцентный сигнал. Поэтому, если брать за «ноль сигнала» самую низкую точку

графика, мы получим результат, не противоречащий электронной микроскопии. Хотя, конечно, на ЭМ срезах картина выглядит более наглядной.

Важным результатом, полученным в работе, является демонстрация того, что на протяжении интерфазы, включая S фазу, структура ламины не меняется, что было показано с помощью анализа отношения величины стандартного отклонения всего массива значений интенсивности флуоресценции ламины к среднему значению на разных стадиях интерфазы. Для более тонкого анализа микроархитектуры ламины был использован количественный компьютерный анализ распределения интенсивностей флуоресценции ламинов А и В вдоль профиля ядерной оболочки на экваториальном срезе SIM. Соотношение пиков и зон локального снижения концентрации ламинов оказалось неизменным в течение S фазы, а также в G1 и G2 фазах.

В экспериментах по выявлению деполимеризованных зон ламины, которые гипотетически могут возникать во время роста ядерной оболочки, О.А.Жиронкина сравнивала профили интенсивности флуоресценции ламины, полученные с помощью SIM микроскопии, в нативных клетках и клетках, пермеабелизованных в 0.1% растворе Тритон X-100 в течение 90 сек. Полученные данные показали, что рост ламины осуществляется без изменения степени ее полимеризации. К сожалению, автор не приводит сведений о том, на основании каких данных судили о том, происходит ли (и в какой степени) удаление деполимеризованных ламинов из клеточного ядра при такой короткой обработке.

Анализ тангенциальных срезов ядерной оболочки с помощью микроскопии с суперразрешением показал, что микродомены ламинов, выявляемые на экваториальных срезах, не являются независимыми «островками», а связаны в единый каркас в составе ядерной оболочки. Выявлены и некоторые различия в характере распределения ламинов А и В1.

Для изучения характера роста ламины на свободной ядерной оболочке О.А.Жиронкиной была найдена интересная модельная система – ядерные почки, которые образуются при гипотоническом воздействии на клетки с последующим возвратом в изотонический раствор. Динамика установления контактов хроматина с ядерной оболочкой в ядерных почках была исследована с помощью корреляционной световой электронной микроскопии. Было показано, что уже через 15 мин хроматин способен взаимодействовать с ядерной оболочкой. Динамика образования ламины в ядерной почке показывает, что образование сетей ламинов А и С происходит независимо от ламина В1.

Принципиально важные результаты по скорости обмена ламинов на разных стадиях интерфазы были получены методом FRAP. Было показано, что скорость обмена ламина А выше, чем у ламина В и постоянна на протяжении всей интерфазы, а также на всех стадиях S фазы. Напротив, ламин В1 в S фазе демонстрировал гораздо более высокую скорость обмена,

чем в G1 и G2. При этом биохимические данные показали, что наличие растворимого ламина B1 не является достаточным условием встраивания его в ядерную оболочку. Использование метода FRAP показало, что скорость обмена ламина B1 одинакова на протяжении всей S фазы.

Как указывает автор (стр 91), в методе FRAP размер зоны выжигания значительно превосходил размер фокуса репликации. (На мой взгляд, здесь следовало бы указать размер фокуса репликации – В.П.). В связи с этим О.А.Жиронкина для проверки гипотезы о возможности локальной разборки ламина во время репликации прикрепленного гетерохроматина использовала SIM микроскопию. Был проведен попиксельный компьютерный анализ распределения интенсивности флуоресценции ламина относительно репликативных фокусов в пермеабелизованных и нативных клетках. Полученные данные показывают, что разборка ламина вблизи сайтов репликации хроматина не происходит.

Иммуноэлектронная микроскопия подтвердила эти выводы и показала, что для обеспечения репликации гетерохроматина не требуется изменения степени полимеризации ламина, ее морфологической перестройки и открепления доменов периферического гетерохроматина от ядерной ламина.

Неожиданный, но интересный результат о пластичности ламина был получен О.А.Жиронкиной при анализе клеток CHO_АОЗ, в которых гетерохроматиновый локус HSR перемещается в центр ядра при репликации ДНК. Показано, что перемещение HSR происходит без потери связи с ядерной ламиной, которая при этом образовывала инвагинации в центр ядра.

На основании полученных данных О.А.Жиронкиной предложена модель встраивания ламинов А и В типов в ламину, учитывающая влияние новосинтезированных ламин-ассоциированных доменов хроматина на скорость встраивания ламина B1.

Выводы, сделанные в диссертации, хорошо обоснованы. Диссертация хорошо оформлена, прекрасно иллюстрирована, написана хорошим литературным языком. Тем не менее, в тексте встречаются опечатки и досадные неточности, некоторые из которых я перечислил ниже:

1. Не указано, какие антитела были использованы для локализации ламина С.
2. с.55 - неточно указаны параметры концентрирующего и разделяющего гелей;
3. Насколько я мог понять, на стр.75 в тексте и в подписях к рис. 22 перепутаны буквы ж и з
4. Не вполне уместным выглядит употребление любимого автором выражения "в контексте" во фразах типа «...исследование структуры ламина в контексте удвоения прикрепленного к ней хроматина...» (с.8); «Характер взаимодействия сетей друг с другом...в том числе в контексте удвоения периферического гетерохроматина...» (с.66); «степень полимеризации ламина в контексте удвоения...» (с.104) и т.д.

5. не очень корректным является использование терминов «лизис» (рис.21) в отношении клеток, пермеабилizованных с помощью короткой обработки тритоном X-100. (с.74);
 6. с.39 написано «...связь ядра с нуклеоплазмой» вместо «с цитоплазмой».

Вышеперечисленные замечания, однако, не снижают научной ценности и не ставят под сомнение выводы работы О.А.Жиронкиной.

Диссертация О.А.Жиронкиной является законченным исследованием, которое одновременно открывает перспективы для дальнейших исследований: в какой степени сделанные выводы могут распространяться на ламины А и В внутри ядра? Как осуществляется встраивание ламин без разборки ламины на стадиях G1 и G2? Как осуществляется связь белков-ламин и структур хроматина и какие модели организации хроматина соответствуют такой связи?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Жиронкиной Оксаны Андреевны «Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для биологической отрасли науки в области клеточной биологии, цитологии и гистологии и полностью соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации, представленные на соискание ученой степени кандидата наук п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

докт. биол. наук,

ведущий научный сотрудник Лаборатории клеточных основ
 развития злокачественных заболеваний ИМБ РАН

В.И.Попенко



В диссертационный совет Д 501.001.52
при Московском государственном
университете имени М.В. Ломоносова

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте по кандидатской диссертации Жиронкиной Оксаны Андреевны «Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе».

Фамилия, имя, отчество (полностью)	Попенко Владимир Иванович
Ученая степень, отрасль науки, шифр и наименование научной специальности	Доктор биологических наук, 03.00.03 – молекулярная биология
Ученое звание	нет
Место работы, занимаемая должность	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний
Адрес почтовый учреждения	ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32
Адрес электронной почты учреждения	isinfo@eimb.ru
Телефон учреждения	+7 (499) 135-23-11

Список публикаций *Попенко Владимира Ивановича* по теме диссертации Жиронкиной Оксаны Андреевны в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет.

Popenko VI, Potekhin AA, Karajan BP, Skarlato SO, Leonova OG. The size of DNA molecules and chromatin organization in the macronucleus of the ciliate *Didinium nasutum* (Ciliophora). // J Eukaryot Microbiol. – 2015 – 62(2) – p.260-264.

Leonova OG, Karajan BP, Ivlev YF, Ivanova JL, Skarlato SO, Popenko VI. Quantitative analysis of nucleolar chromatin distribution in the complex convoluted nucleoli of *Didinium nasutum* (Ciliophora). // Biol Res. – 2013 – 46(1) – p.69-74

Leonova OG, Karadzhian BP, Ivlev IuF, Ivanova IuL, Popenko VI. Study of the positional relationship of nucleolar chromatin and nucleolar compartments in somatic nuclei of the ciliate *Didinium nasutum*. // Mol Biol (Mosk). – 2012 – 46(2) – p.242-50

Orekhova AS, Sverdlova PS, Spirin PV, Leonova OG, Popenko VI, Prasolov VS, Rubtsov PM. Novel bidirectional promoter from human genome. // Mol Biol (Mosk) – 2011 – 45(3) – p.486-95.

Доктор биологических наук

Подпись д.б.н. Попенко В.И. заверяю
Ученый секретарь ИМБ РАН
кандидат химических наук



Попенко Владимир Иванович

Шаскольский Борис Леонидович

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о научно-практической значимости работы

Жиронкиной Оксаны Андреевны

«Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
в Диссертационный совет Д 501.001.52 Московском государственном
университете имени М.В.Ломоносова
по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность исследования

Диссертационная работа Жиронкиной Оксаны Андреевны «Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе», посвящена фундаментальной проблеме – изучению структурно-функциональной организации ламинной сети. Результаты работы также могут иметь важное биомедицинское значение (профилактика, коррекция и лечение ламинопатий).

Новизна исследований и полученных результатов

Цель диссертационной работы – исследование структурных и молекулярных аспектов динамики роста ламины в клеточном цикле, в первую очередь в связи с репликацией хроматина.

Конкретными задачами работы являлось:

- изучение динамики роста ядерной оболочки на стадии интерфазы;
- изучение тонкой организации ламины методами суперразрешения и иммуноэлектронной микроскопии в связи с репликацией периферического гетерохроматина;
- исследование механизмов встраивания новых ламинов при моделировании свободной ядерной мембраны в интерфазе;
- анализ молекулярной динамики ламинов в клеточном цикле методом FRAP;
- изучение изменений структуры ламины при внутриядерном перемещении ассоциированного с ней хроматина.

В результате проведенных исследований диссертанткой показано, что:

- рост ядерной оболочки происходит непрерывно на протяжении всей стадии интерфазы;
- структурной единицей ламины являются микродомены, состоящие из ламинов А и В в различных соотношениях и подобная организация сохраняется на протяжении всей интерфазы;

- встраивание ламина В1 в состав ламиновой сети регулируется наличием контактов специфической фракции хроматина с ядерной оболочкой и происходит преимущественно в S-фазе, в то время как встраивание ламина А не зависит ни от контактов хроматина с ядерной оболочкой, ни от стадии интерфазы;
- при репликации периферического хроматина не происходит его открепления от ядерной оболочки и не вызывает локальных изменений в степени полимеризации ламины в сайте репликации.

Результаты данной работы имеют не только фундаментальный характер, они могут внести существенный вклад в понимание биомедицинских основ защиты клеток от старения клеток, лечения ламинопатий и в противоопухолевой терапии.

Оценка содержания диссертации

Диссертация (изложена на 105 стр) имеет стандартную структуру и содержит следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение результатов, Заключение, Выводы и Список литературы. Диссертация проиллюстрирована 39 рисунками. Список литературы включает 199 источника.

Название работы, вынесенное на титульную страницу, полностью отражает тему и содержание исследования.

Введение занимает 4 страницы, где диссертантка вводит читателя в проблему, изучению которой посвящена диссертационная работа, характеризует актуальность и цель работы, формулирует конкретные задачи исследования.

Обзор литературы занимает 33 страницы и представлен 17 разделами небольшого размера, которые охватывают практически все аспекты структурно-функциональной организации ламины. Особый интерес представляет раздел, где диссертантка рассматривает клеточные аспекты различных видов ламинопатий.

В целом, «Обзор литературы» написан хорошо, представленный материал достаточно полно отражает ситуацию в современной научной литературе, что свидетельствует о том, что соискатель понимает и ориентируется в проблеме, которой посвящена ее диссертационная работа. Эта часть диссертационной работы хорошо подготавливает читателя к восприятию экспериментального раздела.

Раздел **Материалы и Методы** занимает 17 страниц и содержит подробное описание необычайно широкого круга использованных в работе современных методов: цитологических, иммуноцитохимических, молекулярных, генно-инженерных, а также методов биоинформатики. Материалы и методы соответствуют поставленным задачам диссертационной работы.

Раздел **Результаты** изложен на 43 страницах и содержит 6 подразделов. В первом подразделе приведены данные о равномерном росте ядерной оболочки в течение всей интерфазы. Во втором подразделе представлены данные о микродоменной структуре ламины. Показано, что ламины А и В образуют независимые микродомены с различным содержанием отдельных ламинных белков и что степень полимеризации ламины не изменяется в течении интерфазы. В третьем подразделе диссертантка использует модельную систему (ядерная почка) для исследования роста ламины в интерфазе и изучения взаимоотношений ламинной сети и хроматина. На этой системе диссертантка показывает, что формирование сетей ламинов А/С и В1 происходит независимо друг от друга. В четвертом подразделе О.А.Жиронкина представляет полученные ею данные о скорости обмена ламинов на разных стадиях интерфазы. Показано, что скорость обмена ламина А в интерфазе выше по сравнению со скоростью обмена ламина В1. Полученные результаты позволили диссертантке высказать предположение о разных механизмах встраивания ламинов А и В1 в ламиновую сеть: встраивание ламина В1 (в отличие от ламина А) зависит от контактов компактизованного хроматина с ядерной оболочкой. В пятом подразделе представлены данные о накоплении ламинов А и В1 в «растворимой» фракции ядер на разных стадиях интерфазы. Показано, что наличие ламина В1 в «растворимой» фракции еще не является достаточным условием для его встраивания в ламиновую сеть. Это находится в соответствии с ранее высказанным предположением о возможной взаимосвязи встраивания ламина В1 в ламиновую сеть и наличия связанного с ядерной оболочкой хроматина. В последнем (шестом) подразделе, на мой взгляд наиболее интересном, исследовался вопрос взаимоотношения ядерной ламины и репликации периферического гетерохроматина. Полученные диссертанткой данные свидетельствуют о сохранении контактов ядерной ламины и гетерохроматина при репликации ДНК.

В целом, достоверность результатов не вызывает сомнений. Однако, следует отметить, что оформление и изложение результатов вызывает ряд вопросов (см. ниже).

Обсуждение изложено на 10 страницах, где диссертантка рассматривает полученные ею результаты в свете известных литературных данных.

В разделе **Заключение** (3 стр) диссертантка в сжатой, лаконичной форме излагает полученные ею результаты, дает им оценку, предлагает пути и направления дальнейшего исследования тематики диссертационной работы.

Выводы, сделанные Оксаной Андреевной, соответствуют поставленным цели и задачам, сделаны строго в соответствии с полученными результатами.

В целом диссертационная работа оставляет хорошее впечатление, написана хорошим языком. Диссертация оформлена в соответствии с действующими правилами ВАК. Компьютерная печать четкая, текст хорошо выверен. Ссылки на оригинальные исследования приведены по существу. Автореферат соответствует содержанию диссертации. Все основные результаты, полученные Жиронкиной О.А., отражены в статьях рецензируемых научных журналов, входящих в список ВАК.

Однако, диссертационная работа не лишена и недостатков, Так в тексте встречаются опечатки (стр.: 13, 14, 24, 31, 32, 34, 52, 61, 83, 86, 88, 94, 106, 109, 110, 112, 113). В подписи к рис.1 отсутствует обозначение некоторых элементов рисунка, рис.39 – неудачное (одинаковое) цветовое обозначение ламинов А и В типа. Встречаются жаргонные выражение: «В1 и В2 ламины закодированы двумя различными генами (стр.2), «оверэкспрессия» (стр.25), «ошаривание ядер» (стр. 61), «субпопуляция реплицирующихся клеток» (стр.63) и др. Встречаются малопонятные выражения: (белки ламины) «.. обладают трехчастной структурой» (стр.12), «Вероятно, ламин В1 предпочтительно встраивается вдоль фибриллы хроматина» (стр.106). Встречаются неточности, так, РНК-полимеразы обозначаются не арабскими, а римскими цифрами (стр.23). Очень похоже, что в тексте диссертации перепутаны рано/поздно реплицирующиеся

участки хромосом и R/G-бенды хромосом (стр.31). Много раз в тексте диссертации говорится о том, что LADs (Lamina associated domains) взаимодействуют с ядерной ламиной. Однако, с ядерной ламиной взаимодействует не весь LAD, а его небольшой участок, получивший название LAS (Lamina associated segment) (Zullo et al., 2012). Встречаются противоречия: «встраивание ламина В1 регулируется наличием контактов специфической фракции хроматина с ядерной оболочкой..» (стр.8) и «Прямая связь ДНК (имеется ввиду взаимодействие ламинов и хромосомной ДНК) прочная и не зависит от последовательности ДНК» (стр. 21). Здесь следует отметить, что специфичность взаимодействия ДНК с белками ламины все-таки известна, эта специфичность во многом определяется конформационными особенностями участков хромосомной ДНК, взаимодействующих с ламинами (Tan, Lerner, 1972; Shoeman, Traub, 1990; Luderus et al., 1994; Rzepecki et al., 1998; Глазков и др., 1998).

Однако, высказанные замечания не сильно влияют на хорошее впечатление от работы Жиронкиной О.А., которая выполнила большое, многоплановое исследование.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные диссертанткой результаты представляют интерес для цитологов, молекулярных биологов и генетиков, специалистов в области клеточной биологии. Представленные диссертанткой данные рекомендуется направить в Институт цитологии РАН (г.Санкт-Петербург), Институт молекулярной генетики РАН, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск), Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН (г. Новосибирск), Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова и другие научные учреждения.

Заключение

Диссертационная работа Жиронкиной Оксаны Андреевны «Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе» является фундаментальной и законченной работой, которая полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 23 сентября 2013 № 842)», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени

кандидата биологических наук. Принципиальных замечаний по самой работе и по ее оформлению нет. Предъявленная к защите работа дает основание для присвоения Жиронкиной О.А., искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

главный научный сотрудник,
рук. группы Структурно-функциональной
организации эукариотических хромосом
лаборатории регуляции морфогенеза
ФГБУН Института биологии развития им.Н.К.Кольцова РАН
(119334 Москва, ул.Вавилова, 26, E-mail: mvglazkov@yandex.ru),

доктор биологических наук  М.В.Глазков

12 января 2016 г.

Подпись д.б.н. Глазкова М.В.
«Удостоверяю» ученый секретарь
ФГБУН Института биологии развития
им.Н.К.Кольцова РАН
к.б.н.



 М.Ю. Хабарова

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте по кандидатской диссертации Жиронкиной Оксаны Андреевны «Изучение механизмов роста ядерной ламина в интерфазе».

Фамилия, имя, отчество (полностью)	Глазков Михаил Васильевич
Ученая степень, отрасль науки, шифр и наименование научной специальности	Доктор биологических наук, 03.00.15 – генетика
Ученое звание	доцент
Место работы, занимаемая должность	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук, руководитель Группы структурно-функциональной организации эукариотических хромосом Лаборатории регуляции морфогенеза
Адрес почтовый учреждения	119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 26
Адрес электронной почты учреждения	idbras@bk.ru
Телефон учреждения	+7 (499) 135-33-22

Список публикаций *Глазкова Михаила Васильевича* по теме диссертации Жиронкиной Оксаны Андреевны в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет.

Шабарина А.Н., Шостак Н.Г., Глазков М.В. Роль участков прикрепления хромосом к ядерной оболочке в функциональной организации эукариотических хромосом // Генетика – 2010 – 46(9) – стр. 1175-1177.

Глазков М.В. Петельная организация эукариотических хромосом и трехцепочечные структуры ДНК. // Молекулярная биология – 2011 – 45(2) – стр. 294-306

Шабарина А.Н., Глазков М.В. Участки прикрепления интерфазных хромосом к ядерной оболочке: барьерные элементы, но не инсультаторы. // Генетика – 2012 – 48(8) – стр. 1012-1016

Шабарина А.Н., Глазков М.В. Барьерные элементы хроматиновых доменов генов и ядерная оболочка. // Генетика – 2013 – 49(1) – стр. 30-36

Доктор биологических наук, доцент  Глазков Михаил Васильевич

Подпись д.б.н., доцента Глазкова М.В. заверяю.
Ученый секретарь ИБР РАН,
кандидат биологических наук



 Хабарова Марина Юрьевна