

# ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

## ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА» (ФГБНУ НИИМЧ)

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3

Тел/факс 8 (499) 120-80-65 – директор; 8 (499) 120-43-03 – зам. директора по научной работе  
8 (499) 120-95-86 – зам. директора по общим вопросам; 8 (499) 120-94-79 – зам. директора по экономическим и  
правовым вопросам; 8 (499) 120-44-08 – бухгалтерия;

e-mail: morfolhum@mail.ru; www.morfolhum.ru

Р/сч. 40501810600002000079 БИК 044583001 в УФК по г. Москве; Отделение 1 Москва г. Москва 705 Л/сч. 20736Ц36910;  
2136Ц36910 ИНН 7727038641/772701001

Исх. № 01/111

«31» Мая 2016г.

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ «Научно-исследовательский  
институт морфологии человека»  
доктор медицинских наук, профессор



Макарова О.В.

«31» мая 2016 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ О НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ

диссертационной работы Коростиной Валерии Сергеевны «Изучение локализации и функциональной значимости белка Каицо в организме взрослых мышей», представленной в диссертационный совет Д.003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» сибирского отделения Российской академии наук на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

### Актуальность темы выполненной работы

Представленная на отзыв диссертация посвящена изучению метил-ДНК связывающего белка Каизо, определению его локализации в клетках, тканях и органах мышей, исследованию поведенческих реакций и особенностей острого воспалительного процесса у животных с отсутствием гена *Каизо*.

Метил-ДНК связывающий белок Каизо относится к семейству белков ВТВ/POZ и содержит два функциональных домена: N-концевой ВТВ/POZ домен и три «цинковых пальца»  $C_2H_2$  типа на С-конце, необходимые для взаимодействия с метилированной ДНК.

Следует отметить, что на сегодняшний день практически отсутствуют данные о локализации белка Каизо в организме млекопитающих. Более того, в литературе до сих пор не были описаны фенотипические и морфологические проявления нокаута гена *Каизо* у мышей. Известно, что у земноводных в отсутствие белка Каизо нарушаются процессы эмбриогенеза. Однако генетический нокаут *Каизо* у мышей не приводит к нарушениям фенотипа, животные развиваются здоровыми и фертильными. При скрещивании Каизо-нокаутных мышей с мышами линии  $Arс^{Min/+}$ , несущей мутацию опухолевого супрессора APC, у потомства наблюдается увеличение продолжительности жизни и не развивается полипоз кишечника. При гиперэкспрессии белка Каизо у мышей в кишечнике спонтанно развивается хронический воспалительный процесс. Так как и полипы, хроническое воспаление являются фоновыми состояниями для развития рака толстой кишки. Поэтому вполне возможно, что белок Каизо является ключевой молекулой развития рака кишечника и потенциальной мишенью для противоопухолевой терапии. Тем не менее, роль Каизо в воспалительных процессах кишечника до конца не выяснена. Использование модели острого язвенного колита, индуцированного с помощью декстрансульфата натрия у мышей, нокаутированных по гену *Каизо*, позволит подробнее изучить функции белка Каизо при воспалительном

процессе в кишечнике. Таким образом, все перечисленные факты определяют актуальность работы, теоретическую и научно-практическую значимость.

#### **Связь темы диссертации с планами отраслей медицинской науки**

Тема диссертации Коростиной В.С. выполнена в соответствии с планом НИР ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН».

#### **Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автором впервые показано, что белок Каизо экспрессируется во многих тканях и органах мышцы. Получены уникальные данные о том, что белок Каизо локализуется преимущественно в ядрах эпителиальных клеток, его экспрессия выявляется также и в других типах клеток, в том числе в ядрах нейронов и глиальных клеток головного мозга. В фотосенсорных клетках сетчатки глаза белок Каизо локализуется в цитоплазме.

Автором впервые установлено, что белок Каизо экспрессируется в определённом типе сперматогониальных стволовых клеток и может являться маркёром сперматогониальных стволовых клеток типа А(парные) и А(линейные).

Впервые было проведено сравнение структур мозга Каизо-нокаутных мышей и мышей дикого типа. Оказалось, что у нокаутных по гену *Каизо* мышей объём боковых желудочков значительно уменьшен по сравнению с диким типом.

Уникальные данные были получены в результате поведенческого фенотипирования мышей, нокаутных по гену *Каизо*. Отсутствию белка Каизо приводит к увеличению двигательной, исследовательской активности и способности к сенсомоторной фильтрации, нарушению пространственной памяти и снижению когнитивных способностей и проявления депрессивноподобного поведения.

Впервые при изучении роли белка Каизо в воспалительном процессе была использована модель язвенного колита, индуцированного декстрансульфатом натрия у мышей с нокаутом гена *Каизо*. В работе показано, что отсутствие гена *Каизо* задерживает развитие и уменьшает проявление морфологических признаков острого воспалительного процесса на фоне существенно меньшей экспрессии про- и противовоспалительных цитокинов в толстом кишечнике по сравнению с мышами дикого типа.

#### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Морфологический анализ большого количества тканей и органов мышей (кожа, толстый и тонкий кишечник, молочная железа, семенники, роговица и сетчатка глаза, тимус, селезенка, головной мозг) и выявление точной локализации белка Каизо в определённых клетках с подтверждением результатов на контрольных срезах органов Каизо-нокаутных мышей является чрезвычайно важным и полезными с точки зрения дальнейшего изучения функций белка Каизо в различных клетках, тканях и органах.

Полученные данные о структурных изменениях мозга и поведении являются доводом в пользу применения линии мышей с генетическим нокаутом *Каизо* в качестве экспериментальной модели для изучения молекулярных и клеточных механизмов регуляции функций нервной системы и поведения. Изученная линия мышей представляет ценность для исследователей как модель неврологических нарушений, связанных с повышенной активностью и пониженной обучаемостью, что соответствует поведению детей с синдромом двигательной расторможенности.

Используемая в работе модель декстраниндуцированного острого язвенного колита позволила выявить эффект задержки развития острого воспаления в толстой кишке у мышей, нокаутных по гену *Каизо*. Полученные данные являются весомым вкладом в понимание значимости белка Каизо в

развитии острого воспаления, которое в последующем хронизируется и может привести к возникновению рака толстого кишечника.

**Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа В.С.Коростиной представляет собой масштабное комплексное исследование, выполненное с использованием современных морфологических и функциональных методов исследования (иммунофлуоресцентный анализ, количественная ПЦР с применением обратной транскрипции, магнитно-резонансная томография, моделирование воспалительного процесса *in vivo*, оценка поведенческих реакций).

В целом, высокий методический уровень проведенных исследований, соблюдение норм биоэтики, количественный анализ показателей, корректная статистическая обработка количественных данных, уровень публикаций автора делают полученные результаты и выводы доказательными и научно обоснованными.

Диссертация имеет традиционную структуру, изложена на 121 странице, список литературы включает 220 источников. Работа написана хорошим литературным языком, результаты исследования документированы 9 таблицами и 32 оригинальными рисунками, в том числе микрофотографиями отличного качества.

Выводы диссертации соответствуют задачам исследования и полученным результатам. По материалам диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ, и 2 статьи в зарубежных журналах. Результаты, полученные в работе, были представлены на 8 российских и международных конференциях.

Автореферат соответствует основным положениям диссертации и в полном объеме отражает её содержание.

По диссертационной работе есть несколько замечаний.

1. Из работы остается непонятным, известны ли еще какие-либо метил-ДНК связывающие белки, которые могут выполнять компенсаторную функцию белка Каизо.
2. Для исследования иммунного ответа при остром воспалении недостаточно только изучение динамики мРНК цитокинов. Для более полной оценки продукции и секреции цитокинов было бы целесообразно использовать метод иммуноферментный анализ (ELISA) для их количественного определения в гомогенатах ободочной кишки.

Однако эти замечания не являются критическими и не снижают высокого качества работы в целом.

#### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы**

Полученные автором данные являются основой для дальнейшего изучения роли белка Каизо в гистофизиологии различных органов и систем у млекопитающих и механизмах общепатологических процессов, таких как воспаление и опухолевый рост.

Результаты работы могут быть включены в курсы лекций по клеточной биологии, цитологии, гистологии, молекулярной биологии высших биологических и медицинских образовательных учреждений.

#### **Заключение**

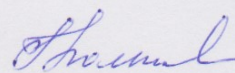
Диссертационная работа Коростиной Валерии Сергеевны «Изучение локализации и функциональной значимости белка Каизо в организме взрослых мышей» является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача: экспериментально установлена локализация белка Каизо в клетках, тканях и органах мышей и определено влияние нокаута гена *Каизо* на поведенческие реакции животных и механизмы развития острого воспаления.

Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии и гистологии, молекулярной биологии, нейробиологии, биологии развития.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Коростиной Валерии Сергеевны соответствует требованиям п.9. «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Отзыв обсужден и утвержден на совместной конференции лабораторий роста и развития, иммуноморфологии воспаления, патологии репродукции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (протокол № 14 от 16 мая 2016 г.)

Доктор биологических наук  
по специальности 03.03.04 -  
клеточная биология, цитология, гистология  
заведующая лабораторией роста и развития  
ФГБНУ «НИИ морфологии человека»  
117418, г.Москва, ул. Цюрупы, д. 3  
Телефон: +7(499)1204303  
Электронная почта: morfolhum@mail.ru



Большакова Галина Борисовна

Подпись д.б.н. Большаковой Г.Б. заверяю

Ученый секретарь  
ФГБНУ «НИИ морфологии человека»  
доктор медицинских наук



Михайлова Лилия Петровна