

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу

Храмеевой Екатерины Евгеньевны

“Архитектура хроматина и ее регуляторная роль в клетках головного мозга”,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 1.5.8 - Математическая биология, биоинформатика

Благодаря успехам технологий, основанных на секвенировании, в последние годы появляется всё больше данных, которые называют «омиксными»: геномных, транскриптомных, эпигеномных. При этом методология анализа таких данных зачастую отстает по скорости развития от количества экспериментов, разнообразие которых продолжает стремительно расти. Работа Е.Е.Храмеевой строится на этом обилии данных и представляет собой многоплановое исследование, предлагающее новые подходы, протоколы и алгоритмы для анализа разных типов омиксных данных.

Диссертационная работа Е.Е.Храмеевой представляет собой комплексное исследование трехмерной организации генома с другими уровнями молекулярной организации клеток: экспрессией генов, эпигенетическими модификациями, связыванием транскрипционных факторов, открытостью хроматина и метаболизмом клеток в целом.

Несмотря на разноплановость типов анализируемых в работе данных, материал хорошо систематизирован и представлен в сжатой, доступной для понимания не только узкими специалистами форме. В работе прослеживается логика изложения материала, и каждый из разработанных методов анализа данных сопровождается примером его применения к решению конкретной биологической задачи, что позволяет в полной мере оценить качество и значимость предлагаемых подходов. При этом работа не является чисто методологической, потому что в результате применения разработанных методов автор делает ряд новых значимых биологических наблюдений, что подтверждается уровнем публикаций автора, которые включают статьи в *Genome Research*, *Nature Communications*, и многие другие. Отдельно хотелось бы отметить полноту исследования: в работе предлагаются новые подходы для анализа практически каждого из известных типов омиксных данных, включая например, iCLIP-seq.

Учитывая изложенное выше, **актуальность темы** исследования не вызывает сомнений. **Научная новизна** работы обусловлена разработкой новых алгоритмов и подходов к анализу омиксных данных различных типов. Применение разработанных методов анализа данных позволило существенно расширить представления о том, как хроматин упакован внутри ядра клетки, и как особенности упаковки влияют на регуляцию экспрессии генов, что несомненно составляет большую **теоретическую и практическую значимость**. **Степень обоснованности и достоверность** полученных результатов подтверждается уровнем публикаций по теме диссертации (39 публикаций в рецензируемых журналах, индексируемых Scopus или Web of Science). Отдельно стоит отметить востребованность этих работ, отражающуюся в количестве их цитирований: их более 1700 по системе Google Scholar.

Диссертация изложена на 209 страницах, включая 46 рисунков и 3 таблицы. Работа состоит из введения, трех глав и заключения. Список литературы содержит 232 наименования.

Глава 1 содержит обзор литературы по теме диссертации. Первая часть обзора включает в себя описание общих принципов организации хроматина на разных масштабах - хромосомные территории, компартменты хроматина, топологически ассоциированные домены (ТАДы), хроматиновые петли. Отдельный подраздел этой части посвящен подробному описанию механизма формирования хроматиновых петель и ТАДов. Вторая часть обзора, в соответствии с темой диссертационной работы, посвящена исследованиям об организации хроматина в мозге человека. Таких исследований немного, но они рассмотрены в этой части обзора достаточно детально. В частности, обсуждаются особенности компартментализации в нейронах и глии, ТАДы и петли в этих типах клеток, а также известные факты о регуляторной роли организации хроматина в мозге человека. В третьей части литературного обзора рассмотрены экспериментальные методы изучения архитектуры хроматина, что важно для понимания сути работы.

Глава 2 посвящена материалам и методам, используемым в работе. Сначала кратко описаны стандартные процедуры анализа данных, далее автор подробно излагает собственные подходы и методы. В частности, рассматриваются особенности нормализации данных Hi-C, связанные с ними нерешенные проблемы и предлагаются возможные подходы к их решению. Подробно описан созданный под руководством автора алгоритм для устранения батч-эффекта в данных Hi-C *HiConfidence*, который опубликован в одном из самых высокоимпактных биоинформатических журналов. Далее, представлен новый метод аннотации ТАДов на основе обогащения эпигенетическими метками, также созданный под руководством автора. После этого обсуждается применение методов машинного обучения для изучения особенностей организации хроматина в литературе и в работах автора. Наконец, изложены разработанные и примененные автором методы интеграции данных Hi-C с другими омиксными данными, в том числе некоторые новые подходы к анализу омиксных данных других типов (RNA-seq, ChIP-seq, ATAC-seq, масс-спектрометрические данные) и примеры применения этих подходов в работах автора.

Глава 3 содержит описание результатов, полученных автором, и их обсуждение. Сначала рассматриваются результаты, расширяющие общие представления об организации хроматина на различных масштабах - от хромосомных территорий до хроматиновых петель. Важно, что автору удалось внести существенный вклад в изучение каждого из уровней организации хроматина, что подтверждает масштабность диссертационной работы. Полученные результаты помогают поместить основные наблюдения автора - об организации хроматина в мозге - в контекст общих для всех тканей принципов организации хроматина. Далее, автор переходит к изложению своих результатов об организации хроматина непосредственно в клетках мозга. Также рассматриваются все масштабы архитектуры хроматина - от меж-хромосомных территорий до хроматиновых петель. Наконец, последняя часть главы посвящена интеграции данных Hi-C с другими омиксными данными в контексте изучения мозга человека. Рассматриваются исследования транскриптома и метаболома мозга, в том числе работы самого автора об эволюции мозга человека - в сравнении с другими приматами и неандертальцами.

Среди достоинств диссертационной работы стоит отметить ее актуальность, комплексность и новизну подходов, тщательную методологическую проработку решаемых задач, полноту и всесторонность исследования. Однако при ознакомлении с диссертацией возникли несколько замечаний к работе:

- 1) Одной из интереснейших концепций упаковки и функциональной активности хроматина в интерфазном ядре, на мой взгляд, является фрактальная глобула и фрактальная природа упаковки хромосом. По какой-то причине ни в обзорной части диссертации, ни в обсуждении результатов эта концепция не упоминается.
- 2) В диссертационной работе обсуждается несколько статей автора, основанных на анализе данных RNA-seq. Однако, из-за краткости изложения, детали процедур анализа остаются неясными. Я предполагаю, что в разных статьях автора эти процедуры могли отличаться. Поскольку известно, что методология анализа RNA-seq данных может сильно влиять на конечный результат исследования, стоило бы упомянуть, какие программы были использованы для подсчета дифференциально экспрессирующихся генов в каждой конкретной статье, и т.п. Без этих подробностей сложно оценить качество выполненного анализа данных.
- 3) В целом бросается в глаза несбалансированность описания некоторых методических подходов, используемых автором для интерпретации своих результатов. Так, описание алгоритма *HiConfidence* очень подробное и занимает 11 страниц, а изложение метода анализа данных iCLIP-seq - всего один абзац. Следовало бы подробнее представить некоторые работы и, наоборот, убрать излишние детали из описания других работ.
- 4) Из-за краткости изложения некоторых исследований автора остаются неясными подробности некоторых процедур анализа. Например:
 - а. Из описания работы про биаллельную транскрипцию (стр. 83) непонятно, как именно “рассортировали транскрипты из данных RNA-seq по аллелям”?
 - б. В чем состоят особенности процедуры анализа данных iCLIP-seq? (стр. 85)
 - в. Как конкретно анализ данных RNA-seq и ChIP-seq привел автора к выводу о влиянии ядерной ламины на глобальную архитектуру хроматина? (стр. 89)
- 5) На спешность подготовки работы указывают такие небрежности, как то, что на некоторых рисунках не переведены на русский язык подписи. Например, рисунки 3.2, 3.8, 3.11. Кроме того, разрешение некоторых рисунков могло бы быть улучшено (например, рис. 3.5). Размер шрифта на некоторых рисунках слишком мелкий (например, рис. 3.7).
- 6) В работе присутствует небольшое количество опечаток. Например, на стр. 19 указано название конференции “шшез”. На стр. 78 - "и и", на стр. 62 "В то же время, плотность длинных неактивных ГАДах была понижена".
- 7) Из стилистических замечаний: в тексте присутствуют фразы, видимо появившиеся в результате перевода статей автора, например "в данной работе" без указания в какой. И часто употребляется "мы". Хорошо, что есть раздел "Личный вклад", он подробно разъясняет вклад автора в коллективное "мы", но на мой взгляд употреблять “мы” в рукописи диссертации.

- 8) В работе присутствуют англицизмы и нерасшифрованные термины. Например, *fastp* (стр. 83). Не узким специалистам это может создать затруднение при знакомстве с работой.

Все сделанные замечания не являются принципиальными и не снижают общей высокой оценки диссертационной работы.

Таким образом, считаю, что диссертация Храмеевой Екатерины Евгеньевны "Архитектура хроматина и ее регуляторная роль в клетках головного мозга" является законченной научно-квалификационной работой и отвечает требованиям п. 9 "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539; 26.09.2022 г. № 1690), а ее автор заслуживает присвоения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8 - Математическая биология, биоинформатика.

Москалев Алексей Александрович

Доктор биологических наук по специальности 03.00.01 - Радиобиология, профессор, профессор РАН, член-корреспондент РАН; заведующий лабораторией геропротекторных и радиопротекторных технологий Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук»; 167982, Россия, Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28; тел.: +7 (8212) 24-11-19; эл.почта: amoskalev@list.ru

Москалев

(Москалев А.А.)

« 22 » января 2024 г.

Подпись Москалева А.А. заверяю:

ученый секретарь Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, к.б.н., Шубина Татьяна Павловна

