

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию 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

Актуальность исследования

Диссертационная работа Храмеевой Е.Е. посвящена разработке биоинформатического аппарата для анализа экспериментальных данных по исследованию архитектуры хроматина в клетках головного мозга. К настоящему моменту, несмотря на достаточное развитие экспериментальных технологий, количество работ в области исследования организации хроматина мозга незначительно. Вероятно, это является следствием отсутствия эффективных алгоритмов обработки данных – решение этой проблемы предложено Екатериной Евгеньевной и описано в диссертационной работе. Это в части информатики.

В части биологии проблематика, которую исследует в своей работе Екатерина Евгеньевна, важна для системного понимания законов реализации информации, закодированной в геноме человека: в своей работе автор формирует проблему необходимости учета влияния трехмерной организации хроматина на профиль экспрессии генов.

Структура и содержание работы

Работа Храмеевой Е.Е. изложена на 209 страницах, снабжена 46 рисунками и тремя таблицами, список литературных источников включает 232 пункта. Диссертационная работа имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения и выводов, перечня статей автора по теме работы, списков сокращений и условных обозначений, литературы, рисунков и таблиц.

Во введении автор описывает общие принципы организации хроматина, связь архитектуры генома с экспрессией генов и участием в регуляции клеточных процессов, формулирует цель и задачи работы, приводит список положений, выносимых на защиту, обоснование научной новизны, научной и практической значимости работы, степень достоверности полученных результатов, список конференций и грантов, в рамках которых проведена апробация работы.

Обзор литературы знакомит читателей с общими принципами организации хроматина, современным состоянием исследований в области анализа архитектуры хроматина в мозге человека, а также с экспериментальными методами изучения архитектуры хроматина.

Глава 2 – материалы и методы – содержит описание стандартных методов обработки данных Hi-C, собственные биоинформатические решения, предложенные автором для обработки данных такого типа (расчет частот контактов между областями хроматина, снижение влияния высокого уровня технической вариабельности, метод аннотации ГАДов – топологически ассоциированных доменов в структуре хроматина, методы на основе машинного обучения для выявления особенностей организации хроматина, биоинформатические методы интеграции с данными, полученными постгеномными методами (метаболомный и липидомный масс-спектрометрический анализ).

Раздел результаты и обсуждение состоит из трех крупных блоков, в которых раскрываются достижения автора в области поставленных в диссертационной работе цели и задач: (1) изучение общих принципов организации хроматина (2) организация хроматина в нейронах мозга (3) интеграция экспериментальных данных, полученных методом Hi-C, с результатами транскриптомного, метаболомного/липидомного анализа ткани мозга.

Завершает работу список выводов, опубликованных в соавторстве Храмеевой Е.Е. статей, списки сокращений и условных обозначений, литературы, рисунков и таблиц.

Научная новизна

Научный коллектив, в котором работает Храмеева Е.Е., один из первых в мире стал заниматься проблемой исследования трехмерной организации хроматина в мозге человека. В диссертационной работе автора проводится системное исследование трехмерной архитектуры генома на примере исследования ткани мозга. Автор решает комплексную задачу, предлагая биоинформатические алгоритмы и решения для обработки и анализа экспериментальных данных о трехмерной структуре генома, так результаты сравнительного анализа организации хроматина в нейронах по сравнению с другими клетками мозга. Екатерина Евгеньевна впервые предлагает установить взаимосвязь между функциональной специфичностью клетки и особенностями архитектуры хроматина. Данные об организации хромосом автор интегрирует в общий молекулярный портрет ткани мозга, предлагая биоинформатические способы сопоставления экспериментальных данных разного типа.

Практическая и теоретическая значимость

В диссертации представлены результаты, обладающие научной новизной и имеющие существенную теоретическую и практическую значимость для научных исследований в области молекулярной биологии, медицины и биоинформатики. Исследование автора дает еще одну гипотезу – нарушение архитектуры хроматина – в качестве возможной причины возникновения патологий мозга.

Теоретическая значимость работы заключается в получении фундаментальных знаний о механизмах, лежащих в основе влияния трехмерной организации хроматина на особенности реализации генетической информации в ткани мозга. Предложенные в диссертационной работе биоинформатические методики и разработанные автором программы, имеют важное значение для корректной постановки эксперимента в области исследования конформации хроматина в тканях и корректной интерпретации полученных данных. Во многом именно наличие биоинформатических алгоритмов является решающим фактором для

трансляции результатов фундаментальных исследований в область практической медицины.

Степень обоснованности выводов и достоверность результатов подтверждается количеством публикаций автора по теме работы в ведущих рецензируемых профильных журналах: с участием автора опубликовано 39 статей, индексируемых в *Scopus/Web of Science*. Результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на многочисленных международных и российских конференциях. Отдельные части исследования прошли независимое экспертное рецензирование в рамках сдачи отчетных материалов по грантам: работа поддержана двумя грантами РНФ, двумя грантами РФФИ. Индекс Хирша Храмеевой Е.Е. равен 22, самая цитируемая статья по теме диссертации – «*Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into topologically associating domains*» - процитирована более 350 раз.

Указанные факты свидетельствуют о достоверности полученных результатов, и свидетельствуют о том, что научные положения и выводы полностью обоснованы и являются достоверными.

Вопросы и комментарии по диссертационной работе

1. Насколько, по мнению, автора, выявленные закономерности организации хроматина в клетках головного мозга могут быть экстраполированы на другие органы и ткани человека? Какие факторы необходимо принимать во внимание при адаптации полученных результатов на другой тип биологического материала?

2. Какую глобальную проблему решает или формулирует автор в диссертационной работе? Работа смотрелась бы более целостно, если бы автор объединила 12 поставленных в работе задач в 3-4 более крупных: многообразие задач затрудняет общее понимание логики работы. В работе не хватает главы «Заключение» с кратким итогом и обобщением выполненного исследования. В текущей редакции раздел содержит список выводов (также 12 пунктов), которые было бы желательно объединить

общим заключением. Формат докторской диссертации позволяет использовать более крупные блоки на этапе формулировки задач и выводов, например, согласно логике представления данных в главе «результаты и обсуждение».

3. Автор предлагает методику оценки филогенетического родства приматов на основе результатов транскриптомного анализа тканей мозга. Насколько, по мнению автора, установленные отношения сохранятся при сравнении транскриптомов тех же видов, но других органов (например, ткани печени)?

4. Насколько сопоставимы результаты транскриптомного профилирования одного и того же образца, выполненные методами snRNA-seq (*single nucleus RNA sequencing*) и данные RNA-seq?

5. Как автор может объяснить сформулированную в работе гипотезу, что «эволюция липидов отражает фенотипические различия между видами более точно, чем различия в геноме и экспрессии генов» (с.143)?

6. Каким образом в работе была показана регуляторная роль длинной некодирующей РНК Falcor/LL35 (с.136)?

7. Какие существуют возможные (гипотетические) механизмы внешнего влияния на организацию хроматина? Если будут обнаружены какие-либо закономерности организации хроматина, которые связаны с развитием патологических состояний, то интересно мнение автора о потенциальных точках и возможных методах коррекции таких точек.

Незначительные замечания:

1. В работе встречаются опечатки, подписи к рисункам на английском языке (например, Рисунок 1.2), небольшие несогласования (например, в содержании «Статьи по теме работы», в тексте – «Публикации по теме диссертации»), неудачные формулировки (например, «они оверэкспрессировали YY1», «протокол включает несколько специфичных для ткани мозга этапов», «меньшее количество материала по сравнению с

оригинальной статьей», «к основаниям петель была применена аннотация состояния хроматина» и др.

2. В блоке «Научная новизна работы» указано (п.7): впервые разработан метод анализа липидного и метаболического состава мозга человека. Желательно пояснить, чем предложенное автором решение отличается от классических экспериментальных и биоинформатических протоколов проведения метаболомного и липидомного профилирования ткани.

3. Список литературы оформлен таким образом, что при ссылке в тексте работы вида “эта гипотеза подтверждается исследованиями [...]” невозможно понять, проведены данные исследования с участием автора или нет. Кроме того, присутствует разнородность и в самой форме цитирования (например, см. п.207 и п.210, стр. 188)

4. Автор на стр. 126 говорит «... что способствует правильной экспрессии генов в клетках этого типа». Что в данном контексте считается «правильной» экспрессией?

5. Желательно в тексте работы («мы проанализировали методом RNA-seq») привести более конкретное описание экспериментальных методов молекулярного профилирования образцов, указать технологию и особенности экспериментального подхода, уровень отсечения сигнала при обработке данных. Такие же замечания по представлению экспериментального блока метаболомного и липидомного анализа – на каком приборе был поставлен эксперимент, каким образом проводили количественный анализ?

Указанные выше замечания не являются принципиальными и не влияют на общее положительное заключение по диссертации: автором выполнена огромная, сложная и актуальная работа, открывающая новое направление системной биологии, связанное с установлением влияния пространственной организации хроматина на профиль экспрессии генов в мозге человека. Современность и своевременность работы подтверждается наличием у Храмеевой Е.Е. публикаций в серьезных профильных

международных журналах. Опубликованные работы достаточно полно отражают основное содержание диссертации, характеризуют результаты проведенных исследований. Выводы диссертации являются обоснованными.

Диссертационная работа Храмеевой Екатерины Евгеньевны “Архитектура хроматина и ее регуляторная роль в клетках головного мозга” является законченной научно-квалификационной работой и соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением 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.

Пономаренко Елена Александровна

Доктор биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика, 1.5.4. – биохимия; директор, главный научный сотрудник лаборатории анализа постгеномных данных Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича" (ИБМХ); 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8; тел.: +7 (499) 246-69-80; Эл.почта: 2463731@gmail.com

Дата: « 05 » 02 2024 г.


(Пономаренко Е.А.)



Подпись 
заверяю 
Ученый секретарь ИБМХ к.х.н. Карпова Е.А.