

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Жегаловой Ирины Владимировны «Анализ трехмерной структуры хроматина эукариот», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. — «Математическая биология, биоинформатика».

Диссертационное исследование Ирины Владимировны посвящено описанию трехмерной организации хроматина у трех объектов: социальной амебы *Dictyostelium discoideum*, морских губок *Halisarca dujardini* и клеток человека с трисомиями по 13, 18 и 21 хромосом. Исследованиям трехмерной организации хроматина уделяется значительное внимание в современной биологии, так как этот уровень организации генома, с одной стороны сам по себе может играть важную роль в регуляции активности некоторых генов, а с другой стороны отражать участие других эпигенетических механизмов регуляции генной активности. Кроме того знание трехмерной организации хроматина дает комплексное представление о распределении в пространстве ядра функциональных элементов генома. Актуальность решаемых в диссертации научных проблем не вызывает никаких сомнений. Действительно прогресс в области 3D геномики позволил значительно расширить знания о устройстве хроматина интерфазных ядер, что в свою очередь позволило расшифровать механизмы формирования патогенеза некоторых заболеваний человека. Но во все еще молодой области 3D геномики остается большое число нерешенных фундаментальных проблем. Например, пространственная организация хроматина позвоночных и насекомых отличается очень сильно. А про 3D организацию хроматина большинства крупных таксонов одноклеточных эукариот вообще ничего не известно. Поэтому проведенное в диссертации Ирины Владимировны описание хроматина амебы *Dictyostelium discoideum* (только одна из задач этой диссертации), уже значительно расширяет имеющееся в этой отрасли науки знания о возможных способах пространственной организации хроматина эукариот.

Работа написана по традиционной схеме, содержит разделы "Введение", "Обзор литературы", "Методы исследования", "Результаты", "Обсуждение" и "Заключение". Необычным является отсутствие в диссертации списка четко сформулированных

выводов научного исследования вынесенных в отдельный раздел. Однако такой вариант оформления диссертации не противоречит Национальному стандарту РФ ГОСТ Р 7.0.11— 2011, регламентирующему оформление диссертации и автореферата диссертации.

Во “Введении” кратко обосновывается актуальность работы, формулируются цели и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость полученных результатов, а также приводятся положения, выносимые на защиту. Этот раздел хорошо написан и позволяет получить первое представление об области исследования, масштабах проделанной работы и важности полученных результатов.

В главе “Обзор литературы” приводится актуальное состояние знаний в области 3D геномики, даются все необходимые концепции и понятия для того чтобы ввести читателя в те проблемы, которые будут решаться автором в разделе результаты. Особенно хочется отметить часть, посвященную биоинформатическим проблемам нормализации Hi-C данных. Эта часть написана с огоньком, описывает очень важные аспекты анализа Hi-C данных, которые, на мой взгляд, недостаточно обсуждаются в научной литературе. Поэтому я бы рекомендовал опубликовать эту часть раздела в виде обзора в профессиональном рецензируемом научном журнале, мне кажется это было бы полезно для комьюнити специалистов в области 3D геномимик. Также хочу подчеркнуть достаточность Обзора литературы - в нем есть все, что нужно для понимания места диссертационной работы в мировой науке. Стоит отметить неизбыточность - в обзоре нет лишних деталей и освещения соседних областей, не связанных непосредственно с полученными результатами.

В глав "Методы исследования" приводится краткое описание стратегий анализа данных и указываются конкретные программы, использованные для решения соответствующих экспериментальных задач. На мой взгляд, такой детализации описания достаточно для независимой репликации полученных результатов.

Само диссертационное исследование строится на решении трех независимых задач: описании трехмерной архитектуры хроматина амебы *Dictyostelium discoideum*, морских губок *Halisarca dujardini* и клеток человека с трисомиями по 13, 18 и 21 хромосом. Хотя автор аргументировано и последовательно обосновывает актуальность решения каждой из этих задач, все же эти части работы являются полностью

автономными, а полученные результаты не дополняют друг друга. Учитывая значительную разницу в глубине проработки этих отдельных разделов работы решение об их объединении в единую диссертацию, на мой взгляд, является не самым удачным. Часть работы, посвященная описанию организации хроматина *Dictyostelium discoideum*, является наиболее проработанной и богатой на ценные научные результаты частью диссертационной работы. Мне очень понравился систематический и методичный подход к всестороннему описанию особенностей пространственной организации хроматина у этого организма. Автор вполне мог бы ограничиться лишь описанием архитектуры хроматина *Dictyostelium discoideum*, этой части работы более чем достаточно для кандидатской диссертации.

Наиболее ценной находкой сделанной в диссертации Ирины Владимировны мне кажется является расшифровка механизма формирования петель хроматина в точках конвергентно направленной транскрипции генов. В геноме *Dictyostelium* этот механизм безусловно является одним из основных при формировании глобальной архитектуры хроматина. Но этот же механизм может играть важную роль в регуляции отдельных локусов генома и у других организмов, в том числе у позвоночных и человека.

В целом, диссертация хорошо написана, работа оставляет впечатление очень качественно выполненной и законченной. Тем не менее, имеется ряд замечаний и вопросов, которые приведены ниже.

1. Для описания координат внутри хромосом автор вводит понятия 5'- и 3'-конец хромосом, например, «центромерных регионов, расположенных в области 5'-конца хромосом». Это неудачные термины, так как такое обозначение позволяет задать ориентацию только для одноцепочечной молекулы ДНК, тогда как хромосома состоит из двуцепочечной молекулы ДНК и на каждом ее конце есть и 5'- и 3'-конец ДНК. В литературе общепринятым для этих целей способом, для задания системы координат в пределах плеча хромосомы, является обозначение направления на центромеру.
2. В диссертации утверждается что при проведении анализа усредненных внутри хромосомных контактов «не усматривается существование выраженных хромосомных территорий, которые присутствуют, например, у млекопитающих, что также может свидетельствовать в пользу иной укладки хромосом в ядре,

вероятно, структуры Рабля». Этот тезис не понятен. Хромосомные территории отчетливо видны на полногеномной карте контактов (рис 14). Каким образом особенность распределения отдельных хромосом в пространстве, чем по сути является конфигурация по Раблю, может влиять на внутривхромосомные контакты (хромосомные территории) остается непонятным? Не может ли наблюдаемое явление объясняться более плотной упаковкой хромосом *Dictyostelium*?

3. Одна из интересных находок работы обнаружение дальних контактов в хроматине *Dictyostelium*. К сожалению, в работе не приведены примеры таких контактов на Hi-C карте. Вид таких «сырых» необработанных структур на картах бывает очень информативным для специалистов в 3D геномике, поэтому стоило бы их привести в работе.
4. Очень интересен результат описания цис-регуляторных элементов (энхансеров) в геноме *Dictyostelium*. При этом с выводом автора что «энхансеры в *D. discoideum* представляют собой не специфичные для стадий регуляторные элементы, как это известно для млекопитающих и дрозофилы, а скорее элементы, поддерживающие стабильную экспрессию» можно не согласиться. Так, как и у млекопитающих и у дрозофилы множество энхансеров имеют очень широкую активность в разных тканях и стадиях развития. Поэтому вполне возможно, что, если бы подобный набор анализов как был проведен в диссертации для *D. discoideum* был бы проведен для энхансеров млекопитающих автор бы тоже пришел к выводу (неверному) о несущественной роли энхансеров в стадиеспецифической регуляции активности генов млекопитающих.
5. Вывод, что в хроматине *H. dujardini* обнаружены хроматиновые фонтаны, на мой взгляд, не достаточно обоснован. В работе показаны только фонтаны на агрегированных плотках, при этом на показанных в диссертации Hi-C картах глазом фонтанов не видно. Для построения агрегированных плоток были использованы участки карт для которых проведена автоматическая аннотация фонтановых структур. Такой подход позволяет, выявить фонтан на агрегированном плоте даже при анализе карт с белым шумом, так как на агрегированном плоте должна проявиться маска, которую использовали для аннотации фонтанов. Хотелось бы конечно увидеть структуры типа фонтан на необработанных картах.

6. Дизайн эксперимента по описанию особенностей организации хроматина в клетках с трисомиям, на мой взгляд, неудачный. Описываются трисомии по трем разным хромосомам, на двух разных типах клеток, при этом каждая трисомия представлена лишь одной биологической репликой (организмом). Надежно выявить общие для трисомий закономерности при таком дизайне эксперимента навряд ли возможно. Мне кажется стоило бы дополнить эту часть разделом, в котором перечислить ограничения такого подхода и обсудить возможность обобщения проведенных наблюдений на все трисомии.
7. Диссертация отлично написана и оформлена, мне стоило больших трудов найти в тексте небольшое число опечаток, например, «обеденная генами хромосома 18» и «образцов с трисомиями человека». Использование лабораторного жаргона, например, «было разработано несколько методов для оценки воспроизводимости анализа Hi-C в популяционных данных» - имеется в виду данные полученных на популяции клеток, bulk Hi-C. И перепутанные подписи левой и правой панели в рисунке 27.

Вместе с тем, отмеченные недостатки не снижают моей высокой оценки работы Ирины Владимировны, а замечания носят рекомендательный характер. Работа выполнена на высоком методическом уровне, содержит новые интересные научные данные, хорошо оформлена и легко читается. Полученные автором результаты, наряду с богатым справочным материалом, несомненно, будут полезны не только исследователям, занимающимся вопросами трехмерной организацией хроматина, но и могут быть использованы в практических целях, а также при подготовке учебных курсов по молекулярной биологии, генетике и биоинформатике. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Диссертация Жегаловой Ирины Владимировны полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., №

1168 от 01.10.2018г.). Таким образом, соискатель Жегалова Ирина Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по 1.5.8. — «Математическая биология, биоинформатика».

Заведующий лабораторией генетики развития,
ФИЦ ИЦиГ СО РАН, кандидат биологических наук
Н.Р. Баттулин



28.08.2024

Адрес места работы:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

Адрес: 630090, Новосибирск, Россия, пр. ак. Лаврентьева, 10

Для телеграмм: Новосибирск 90, ЦИТОЛОГИЯ

Телефон: +7(383) 363-49-80

Факс: +7(383) 333-12-78

E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

Подпись Баттулина Н.Р. заверяю:
ученый секретарь ИЦиГ СО РАН, к.б.н.,
Орлова Г.В.



28.08.2024