

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Кононковой Анны Дмитриевны “Структура хроматина дрозофилы в контексте влияния белков ядерной периферии и процессов, ассоциированных с ранними стадиями сперматогенеза”, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 - Математическая биология, биоинформатика

Актуальность

Исследование регуляции транскрипции генов является одной из самых активно развивающихся областей современной биологии. На настоящем этапе развития биологических наук получение и анализ новых данных представляются абсолютно невозможными без активного использования различных математических методов. С бурным развитием высокопроизводительного секвенирования (NGS) математические подходы стали играть еще большую роль в исследовании биологических процессов. В основе диссертации соискателя, Анны Дмитриевны Кононковой, лежит анализ данных, полученных при использовании самых передовых молекулярно-биологических методов, а именно:

- изучение полного транскриптома клеток (RNAseq и схожие методы),
- исследования связывания отдельных белков и различных модификаций нуклеосом с большим пулом геномных последовательностей (ChIP-seq, DamID-seq и схожие методы),
- анализ трехмерной организации ядра методами, основанными на 3С-технологиях (5С, Hi-C, micro-C и др.), получивший название 3D-геномики.

В качестве объекта исследования в работе используется плодовая мушка *Drosophila melanogaster*. Этот удобный модельный объект имеет, помимо всего прочего, еще и то преимущество, что геном дрозофилы примерно в 20 раз меньше генома млекопитающих, а это делает исследования с применением методик NGS более удобными и менее затратными.

Кратко можно сказать, что диссертационная работа соискателя посвящена изучению трехмерной структуры хроматина у дрозофилы. При этом исследуются изменения в организации хроматина на двух моделях. В первом случае проводится исследование структуры хроматина в половых клетках дрозофилы на разных стадиях сперматогенеза. Вторая часть посвящена исследованию фактора Elys, влияющего на формирование и поддержание структуры хроматина. Полученные данные необходимы для понимания закономерностей изменения структуры хроматина, многие из которых могут оказаться справедливыми не только для дрозофилы, но и для клеток человека.

Структура и содержание диссертации

Диссертация Анны Дмитриевны написана по классической схеме и включает введение, основные главы и заключение с выводами. В конце приведен список использованной литературы, включающий 125 ссылок. Работа изложена на 109 страницах, содержит 33 рисунка и 5 таблиц.

В введении обосновывается актуальность темы диссертации, новизна исследования, практическая значимость и достоверность результатов. В первой главе подробно и в соответствии с современными представлениями описаны основные принципы организации хроматина у дрозофилы. Кроме того, глава дополнена информацией о методах детекции пространственных

взаимодействий, подробностях протокола Hi-C, особенностях протекания сперматогенеза у дрозофилы и о связанных с хроматином функциях некоторых белков ядерной периферии. Таким образом, в первой главе даются все сведения, необходимые для понимания контекста исследования. Вторая глава посвящена материалам и методам. Описаны все шаги проведенного анализа: препроцессинг, параметры поиска основных структурных единиц в хроматине дрозофилы, принципы их сравнения и формирования групп объектов (ТАДы, границы, гены). Перечислены использованные программы и публичные данные, а также нестандартные и не реализованные в готовых пакетах решения. В третьей главе изложены результаты исследования, описаны изменения в структуре хроматина, ассоциированные с процессами сперматогенеза, а также происходящие вследствие деплеции нуклеопорина Elys. Каждый раздел данной главы сопровождается краткими обсуждениями.

В целом работа выглядит сбалансированной по объему представленной в каждой главе информации. Содержательная часть диссертации завершается заключением и выводами. В разделе «Выводы» автор формулирует основные достижения диссертации, которые соответствуют поставленным целям и задачам и отражают результаты проведенной работы.

Научная новизна

В диссертации А. Д. Кононковой впервые описаны изменения трехмерной архитектуры генома на ранних стадиях сперматогенеза дрозофилы, в том числе при активации значительного числа генов. В нескольких более ранних работах этот процесс освещался у млекопитающих, однако для плодовой мушки подобных исследований никогда не проводилось. Роль нуклеопорина Elys в компактизации хроматина также ранее подробно не

изучалась. В настоящей работе впервые показано, что деплеция Elys приводит к изменению плотности упаковки хроматина, сопоставимому с наблюдаемым при деплеции белков ламины.

Практическая и теоретическая значимость

Представленный в диссертации А. Д. Кононковой анализ данных может служить полезным ориентиром для будущих исследований в соответствующей области. Продемонстрированные изменения в трехмерной организации генома при деплеции нуклеопорина Elys соотносятся с эффектами, наблюдаемыми при деплеции ламины, и, таким образом, указывают на общность роли белков периферии в компактизации и правильной укладке хроматина. Многие недавние исследования указывают на то, что ряд дегенеративных заболеваний и клеточное старение, затрагивающее разнообразные уровни регуляции, ассоциированы также с нарушением метаболизма ядерных пор и их частичной потерей. Так как Elys входит в состав ядерной поры, эти события могут приводить не только к ожидаемым эффектами, связанным с нарушением молекулярного транспорта, но и, согласно выводам диссертации, к изменениям на уровне трехмерной организации хроматина. Таким образом, результаты диссертационной работы А. Д. Кононковой характеризуются высокой теоретической значимостью для понимания базовых принципов трехмерной архитектуры генома и могут оказаться ценными в контексте решения проблем лечения и диагностики дегенеративных заболеваний и проблемами, связанными с клеточным старением.

Обоснованность положений и выводов диссертации, достоверность результатов

Положения диссертации и представленные в работе выводы являются обоснованными и достоверными. Выводы сформулированы в соответствии с результатами исследования, которые в свою очередь получены в ходе качественного и детального биоинформатического анализа нескольких типов данных.

Достоверность результатов подтверждается публикациями по теме диссертации в ведущих научных изданиях, согласованностью изменений, наблюдаемых на разных масштабах, а также следованию принципам корректного анализа данных, включающего оценку их качества, кластеризацию реплик, использование методов статистики, соответствующих тестируемым гипотезам, и применение хорошо зарекомендовавших себя биоинформатических подходов.

Замечания и комментарии.

- Подписи к рисункам во всей работе весьма кратки, что часто приводит к необходимости искать описание приведенных иллюстраций и надписей в основном тексте диссертации. В ряде случаев отсутствуют ссылки на рисунки в тексте (например, рис. 11 в, рис. 1 в в автореферате).

- В первой части результатов на рисунках не дается расшифровки сокращениям SpГ и SpЦ. Из текста понятно, что имеются в виду сперматогонии и сперматоциты, однако это совсем не ясно при рассмотрении рисунков. На Рисунке 17 (Рис.4 в автореферате) появляются обозначения SpCs

и SpGs, вероятно, соответствующие ранее приводимым сокращениям SpГ и SpЦ. Так же в рисунке 17в отсутствуют пояснения обозначений q1-q5.

- На отдельных рисунках отсутствуют обозначения уровней достоверности полученных результатов. Например, на Рисунке 11б такая информация указана, а на Рисунках 11а и 11в – нет.

- Во второй части работы автор проводит исследование изменений не только в структуре ГАДов и/или уровня инсуляции, но и более специфических петлевых структур (раздел 3.4.5 «Влияние деплеции Elys на петли и энхансерно-промоторные взаимодействия»). В связи с этим возникает вопрос: выполнялись ли подобные работы для анализа данных в первой части, а именно при сравнении структуры хроматина на модели сперматогонии/сперматоциты?

- При исследовании полногеномного распределения сайтов связывания белка Elys было бы интересно выявить мотивы в областях обогащения Elys. Детектируются ли в этом случае только А/Т-богатые участки, специфичные для домена АТ-hook, или имеет место обогащение и дополнительных мотивов, таких как GAGA-сайты и другие консенсусы связывания? Это могло бы помочь ответить на вопрос о механизмах рекрутирования белка Elys на хроматин. Проводились ли подобные расчеты и, если да, какие были результаты?

Указанные небольшие замечания не влияют на высокую оценку работы, а заданные вопросы носят дискуссионный характер.

Заключение.

Диссертация Кононковой Анны Дмитриевны «Структура хроматина дрозофилы в контексте влияния белков ядерной периферии и процессов,

ассоциированных с ранними стадиями сперматогенеза» выполнена на высоком методическом уровне и является оригинальной научной работой. По актуальности, научной значимости полученных результатов она полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, представляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Кононкова Анна Дмитриевна, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 - Математическая биология, биоинформатика

Ведущий научный сотрудник группы Биологии хроматина
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Институт биологии гена
Российской академии наук,
доктор биологических наук

Ерохин Максим Максимович

Контактная информация:

Адрес: 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

Телефон: 8 926 557 30 44. E-mail: yermaxbio@yandex.ru

Подпись Ерохина М. М. заверяю
Ученый секретарь ИБГ РАН,
Доктор биологических наук

Набирочкина Елена Николаевна

Дата: 25.12.2024

