

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.101.01 НА
БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ПРОБЛЕМ ПЕРЕДАЧИ
ИНФОРМАЦИИ ИМ. А.А. ХАРКЕВИЧА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета
от 27 января 2025 г., протокол № 12

О присуждении Кононковой Анне Дмитриевне,
гражданину Российской Федерации,
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Структура хроматина дрозофилы в контексте влияния белков ядерной периферии и процессов, ассоциированных с ранними стадиями сперматогенеза» по специальности «1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика», принята к защите 21 ноября 2024 года, протокол № 10, диссертационным советом 24.1.101.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук (127051, г. Москва, Большой Каретный переулок, д.19 стр. 1, приказ о создании №978/нк от 16 декабря 2013 года, номер изменен приказом № 561/нк от 03 июня 2021 года).

Соискатель Кононкова Анна Дмитриевна, гражданин Российской Федерации, 1987 года рождения, в 2012 году окончила Факультет теоретической и экспериментальной физики Национального исследовательского ядерного университета МИФИ по специальности «Радиационная безопасность человека и окружающей среды», специализация «Радиационная биофизика». В 2018 окончила магистерскую программу «Анализ данных в биологии и медицине» НИУ ВШЭ по направлению подготовки «01.04.02 – Прикладная математика и

информатика». В 2024 году окончила аспирантуру ИППИ имени А.А. Харкевича РАН по специальности «1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика» (направление подготовки «06.06.01 – Биологические науки»). С 2019 года по настоящее время соискатель работает в Сколковском институте науки и технологий в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в Сколковском институте науки и технологий, Центр молекулярной и клеточной биологии.

Научный руководитель – Екатерина Евгеньевна Храмеева, доктор биологических наук, заведующий лабораторией Центра молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обусловлен их высокой компетентностью в области биологии хроматина, математических подходов к анализу биологических данных и методов их интеграции, а также тем, что за последние годы ими было опубликовано большое количество научных работ по темам, близким к теме диссертации.

Официальные оппоненты:

Шайтан Алексей Константинович, доктор физико-математических наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, профессор кафедры Биоинженерии Биологического факультета МГУ им. Ломоносова,

Ерохин Максим Максимович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник и руководитель группы Биологии хроматина Института биологии гена РАН,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова Российской академии наук» – дала **положительное заключение**, подписанное кандидатом биологических наук Фридман Мариной Владиславовной, ведущим научным сотрудником лаборатории системной биологии и вычислительной генетики ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН, и утвержденное 27 декабря 2024г. В заключении

отмечается ряд недостатков, касающихся оформления рисунков, а именно: сквозь всю диссертацию, особенно раздел 3.1.2., прослеживается проблема отсутствия подписей на осях графиков (рис.13, 15, 21), что существенно затрудняет их интерпретацию. Кроме того, на рисунке 16 не указано, для какого типа взаимодействий, межхромосомных или внутрихромосомных, он построен. Также отмечено наличие нескольких грамматических и пунктуационных ошибок.

Несмотря на замечания, в отзыве отмечено, что «работа очень хорошо подготовлена» и «перечисленные замечания не подвергают сомнению достоверность полученных результатов и обоснованность выводов, сделанных в диссертации, и не снижают ее научной значимости». В заключении отзыва указано, что «диссертационная работа А. Д. Кононковой выполнена на высоком научном и методическом уровне и соответствует требованиям по актуальности, степени обоснованности научных положений и выводов, их достоверности, практической значимости и новизне, установленным пунктами 9-14 "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), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Учитывая наличие достаточного числа публикаций в рецензируемых научных изданиях первого квартиля и научную значимость полученных результатов, автор диссертационной работы заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности "1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика"».

В отзыве оппонента Шайтана Алексея Константиновича, доктора физико-математических наук, профессора, члена-корреспондента РАН, профессора кафедры Биоинженерии Биологического факультета МГУ им. Ломоносова, научного сотрудника Международной лаборатории биоинформатики НИУ ВШЭ, выдвинут ряд замечаний, пожеланий и дискуссионных вопросов:

- 1) Вопросы вызывает использование термина «убиквитные гены». В поиске в интернете такое сочетание не встречается на русском. Используется ли оно в литературе на русском языке? Есть ли альтернативы, уже используемые в русском языке. Стоило ли вводить этот новый термин?
- 2) Вызывает некоторые вопросы характеристика, называемая автором «степень выраженности компартмента». Что конкретно понимается под этой характеристикой? Почему ее расчет ведется через усреднение частоты контактов по первой квантили главной компоненты? Что будет, если ВВ компартмент маленький, но очень плотный, компактный. Будет ли это интуитивное представление выраженности совпадать с численными характеристиками.
- 3) Дискуссионный вопрос: в работе много говорится о 3Д геноме, но фактически анализ делается на основе двумерных усредненных карт. Интересно было бы узнать, как автор представляет себе трехмерный вид компартмента? Например, выраженный небольшой ВВ компартмент – это что в реальности? Маленькая глобула или что-то еще?
- 4) Интересно было бы узнать, как определялись сайты связывания Elys, почему для этого не подходит метод ChIP-seq, в чем преимущество метода DamID, и как он работает.
- 5) Вопрос дискуссионный: недавно была опубликована статья Афанасьева и др. «The probability of chromatin to be at the nuclear lamina has no systematic effect on its transcription level in fruit flies» (2024, Epigenetics & Chromatin). Авторы утверждают, что на основе моделирования показывают, что «probability of chromatin being in contact with the nuclear envelope has no systematic, causal effect on the transcription level in Drosophila». Просьба пояснить мнение автора по этому выводу, значит ли вывод статьи, что авторы, считают, что делеция белков ламины не приводит к изменению транскрипции в ТАДах, находящихся около ламины? Просьба пояснить, как в контексте данной дискуссии следует интерпретировать положение диссертации «Деплеция нуклеопорина Elys приводит к изменению плотности упаковки хроматина, сопоставимому с наблюдаемым при

деплеции белков ламинины». Имеются ли противоречия во взгляде автора диссертации и авторов вышеупомянутой статьи на вопрос влияния белков ламинины на изменение плотности упаковки и транскрипцию?

- б) Ряд замечаний редакторского характера и по части оформления подписей к графикам.

В отзыве отмечено, что «несмотря на имеющиеся замечания и вопросы, диссертационная работа Кононковой Анны Дмитриевны "Структура хроматина дрозофилы в контексте влияния белков ядерной периферии и процессов, ассоциированных с ранними стадиями сперматогенеза" 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 кандидата биологических наук по специальности "1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика"».

В отзыве оппонента Ерохина Максима Максимовича, доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника и руководителя группы Биологии хроматина Института биологии гена РАН, рекомендовавшего диссертацию к защите, имеется ряд вопросов:

- 1) Во второй части работы автор проводит исследование изменений не только в структуре ТАДов 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?
- 2) 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 AT-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?

В отзыве также присутствуют **замечания**, касающиеся оформления рисунков. Оппонент отмечает краткость подписей, вариации в сокращениях одних и тех же терминов, отсутствие расшифровки некоторых сокращений и отсутствие на некоторых рисунках обозначения уровней достоверности полученных результатов (при указании их в тексте).

Несмотря на имеющиеся в работе недостатки, **в отзыве сказано**, что «указанные небольшие замечания не влияют на качество работы» и «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”».

Соискатель имеет две статьи в международных рецензируемых журналах из первого квартиля, включенных в перечень ВАК, по теме диссертации. Кроме того, соискателем опубликовано три тезиса по теме диссертации в материалах всероссийских конференций.

Статьи по теме диссертации:

1. Doronin, S. A.*, Ilyin, A. A.*, **Kononkova, A. D.***, Solovyev, M. A.*, Olenkina, O. M., Nenasheva, V. V., Mikhaleva, E. A., Lavrov, S. A., Ivannikova, A. Y., Simonov, R. A., Fedotova, A. A., Khrameeva, E. E., Ulianov, S. V., Razin, S. V., & Shevelyov, Y. Y.* (2024). Nucleoporin Elys attaches peripheral chromatin to the nuclear pores in interphase nuclei. *Communications Biology*, 7(1), 783.
2. Ilyin, A. A.*, **Kononkova, A. D.***, Golova, A. V.*, Shloma, V. V.*, Olenkina, O. M.*, Nenasheva, V. V., Abramov, Y. A., Kotov, A. A., Maksimov, D. A., Laktionov, P. P., Pindyurin, A. V., Galitsyna, A. A., Ulianov, S. V., Khrameeva, E. E., Gelfand, M. S., Belyakin, S. N., Razin, S. V., Shevelyov, Y. Y. (2022). Comparison of genome architecture at two stages of male germline cell differentiation in *Drosophila*. *Nucleic Acids Research*, 50(6), 3203–3225.

* - равный вклад авторов

Результаты работы, опубликованные в сборниках тезисов международных конференций:

1. ContactHunter: поиск значимых взаимодействий для заданных геномных локусов на основе данных Hi-C. *Proceedings of 11th Moscow Conference on Computational Molecular Biology MCCMB'23*.
2. Влияние изменения уровня ацетилирования на структуру хроматина в клеточной линии дрозофилы. Роль нуклеопорина Элис в поддержании структуры хроматина. Сборник трудов 47-й междисциплинарной школы-конференции ИППИ РАН. 2023
3. Chromatin structure changes during drosophila spermatogenesis. Сборник трудов 43-й междисциплинарной школы-конференции ИППИ РАН. 2019

Кроме того, соискатель является одним из авторов еще в двух статьях по смежной тематике, которые также входят в перечень международных рецензируемых журналов из первого квартиля, включенных в перечень ВАК.

1. Zagirova D, Kononkova A, Vaulin N, Khrameeva E. From compartments to loops: understanding the unique chromatin organization in neuronal cells. *Epigenetics Chromatin*. 2024 May 23;17(1):18. doi: 10.1186/s13072-024-00538-6. PMID: 38783373; PMCID: PMC11112951.

2. Pletenev IA*, Bazarevich M*, Zagirova DR*, Kononkova AD, Cherkasov AV, Efimova OI, Tiukacheva EA, Morozov KV, Ulianov KA, Komkov D, Tvorogova AV, Golimbet VE, Kondratyev NV, Razin SV, Khaitovich P, Ulianov SV, Khrameeva EE. Extensive long-range polycomb interactions and weak compartmentalization are hallmarks of human neuronal 3D genome. *Nucleic Acids Res.* 2024 Jun 24;52(11):6234-6252. doi: 10.1093/nar/gkae271. PMID: 38647066; PMCID: PMC11194087.

На автореферат поступили положительные отзывы.

В отзыве на автореферат Ступникова Алексея Ильича, кандидата физико-математических наук, доцента Московского физико-технического института, **указано, что** «диссертационная работа Кононковой Анны Дмитриевны “Структура хроматина дрозофилы в контексте влияния белков ядерной периферии и процессов, ассоциированных с ранними стадиями сперматогенеза”, представленная на соискание ученой степени кандидата наук, выполнена на высоком уровне, имеет фундаментальное и прикладное значение и является законченным исследованием. По актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов настоящая работа полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, ее автор – Кононкова Анна Дмитриевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности “1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика”».

В отзыве на автореферат Фишмана Вениамина Семеновича, кандидата биологических наук, заведующего сектором геномных механизмов онтогенеза ИЦиГ СО РАН, дан общий комментарий, затрагивающий методологические аспекты исследования и указывающий на необходимость разработки более элегантных и детализированных подходов к анализу данных по структуре хроматина. Кроме того, поставлен следующий вопрос: «Могут ли обнаруженные

эффекты (например, изменения частот взаимодействий) быть полностью или частично объяснены изменением формы хромосомных территорий, их возможным удлинением?». Вместе с тем, **в отзыве указано:** «Автореферат Кононковой Анны Дмитриевны является примером высококачественного исследования, объединяющего фундаментальную биологию и современные методы анализа. Работа впечатляет своей глубиной, качеством методологического подхода и значимостью полученных результатов. Считаю, что диссертация заслуживает самой высокой оценки, а автор – присуждения ученой степени кандидата биологических наук».

В отзыве на автореферат Жариковой Анастасии Александровны, кандидата биологических наук, доцента факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова, заданы небольшие уточняющие вопросы и **указано следующее:** «Диссертационная работа Анны Дмитриевны является целостным исследованием, в котором поставленная проблема рассмотрена с разных сторон. <...> Автореферат Кононковой Анны Дмитриевны полностью отвечает требованиям, предъявляемым к работам подобного типа, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности “1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика”».

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований впервые показано:

- проявляющееся на нескольких уровнях организации изменение структуры хроматина дрозофилы при активации транскрипции сперматоцитспецифичных генов;
- повышение частот пространственных взаимодействий сперматоцитспецифичных генов на стадии активации, не связанное с их близостью в функциональном отношении;
- взаимосвязь между расстоянием до ближайшей границы ТАДа и возможностью перехода из неактивного компартмента в активный;

- локальная декомпактизация хроматина в области промоторов генов при их активации, но не формирование новых, выраженных границ;
- наличие более выраженного неактивного компартмента как на стадии сперматогониев, так и на стадии сперматоцитов, при сравнении с эмбриональной клеточной линией;
- изменения в организации хроматина дрозофилы, предположительно обусловленные увеличением объема ядра;
- существенная роль нуклеопорина Elys в поддержании плотности упаковки активного и неактивного хроматина, на разных уровнях организации.

Разработаны методы:

- анализа карт Hi-C с учетом интеграции других типов данных и специфики структуры хроматина дрозофилы: подобраны оптимальные разрешения для разных этапов исследования, алгоритмы и параметры детекции ТАДов, определена область поиска парных взаимодействий сперматоцитспецифичных генов и локальных изменений;
- усовершенствован и реализован в виде программы алгоритм поиска значимых контактов для заданного списка геномных локусов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что оно расширяет представления о закономерностях трехмерной организации хроматина в целом и раскрывает влияние на нее ряда факторов и процессов. Ценность результатов по части изучения роли белков ядерной периферии, на примере нуклеопорина Elys, и изменения размера ядра обусловлена малым числом работ по данной тематике, тогда как ввиду наличия взаимосвязи между этими факторами и структурой хроматина, исследования в данном направлении являются востребованными в современной биологии. Результаты, полученные для ранних стадий сперматогенеза, определяют границы изменения структуры хроматина при активации транскрипции, раскрывают особенности взаимосвязи между пространственной, линейной и функциональной близостью сперматоцит-

специфичных генов и поднимают вопросы о наличии таковой в других видах и группах генов.

Значение полученных соискателем результатов для практики подтверждается тем, что результаты анализа данных по структуре хроматина в сперматогенезе представляют собой основу для сравнительного анализа с привлечением других организмов, типов клеток и групп генов, что в перспективе может послужить основой для разработки медицинских приложений, а представленные в работе аналитические подходы могут использоваться в качестве методических рекомендаций. Важность наблюдений, полученных при изучении вклада Elys в организацию структуры хроматина, объясняется его вхождением в состав ядерных пор, что может оказаться существенным при изучении физиологических отклонений, ассоциированных с метаболизмом компонентов комплекса ядерной поры.

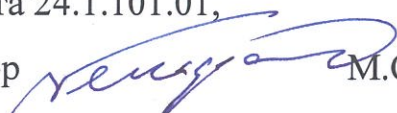
Свидетельства достоверности результатов исследования. Результаты, полученные в работе, согласуются с данными, представленными в литературе. Достоверность результатов, научных положений и выводов не вызывает сомнений ввиду большого объема экспериментальных данных, корректно выбранных методов анализа, включая статистические методы.

Личный вклад соискателя состоит в участии в выборе стратегий исследования, планировании анализа данных и его выполнении, интерпретации и обобщении полученных результатов. Результаты, описанные в диссертации, получены автором самостоятельно. В диссертации решены задачи, имеющие значение для развития исследований, направленных на дальнейшее изучение опосредующих структуру хроматина факторов и молекулярных механизмов, а также взаимной регуляции пространственной организации ДНК и экспрессии генов. По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности «1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика».

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация представляет собой завершенное научное исследование. По актуальности, новизне, практической значимости диссертация соответствует требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля, 2 августа 2016 г., 29 мая, 28 августа 2017 г., 1 октября 2018 г., 20 марта, 11 сентября 2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

На заседании 27 января 2025 года диссертационный совет принял решение присудить Кононковой Анне Дмитриевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности «1.5.8 – Математическая биология, биоинформатика».

При проведении тайного голосования из 15 человек, входящих в состав диссертационный совет, в заседании участвовало 10 человек, из них 7 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации. Проголосовали: за – 10, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета 24.1.101.01,
доктор биологических наук, профессор  М.С. Гельфанд

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.101.01,
доктор биологических наук  О.В. Казенников

27 января 2025 г.

