

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
**ИНСТИТУТ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КЛЕТОЧНОЙ
БИОЛОГИИ**
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИМКБ СО РАН)

пр. Академика Лаврентьева, д. 8/2, Новосибирск, 630090
телефон (383) 3639042, факс (383) 3639078
e-mail: info@mcb.nsc.ru
<http://www.mcb.nsc.ru>

ОКПО 30781167, ОГРН 1115476157070,
ИНН / КПП 5408291757 / 540801001

22.04.2019 № 15318 – 05-2171/36

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного учреждения
науки Институт молекулярной и клеточной биологии
Сибирского отделения Российской академии наук

д.б.н. Демаков С.А.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Богомолова Антона Геннадьевича «Разработка метода визуализации хромосомспецифичных последовательностей ДНК при проведении FISH» представленной к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 — математическая биология, биоинформатика

Основные научные результаты и их актуальность для науки и практики

Визуализация последовательностей ДНК на хромосомах различных организмов произвела революцию в эволюционной геномике и стала надежным инструментом выявления хромосомных аномалий в клинической цитогенетике. Однако подавляющее большинство работ с использованием хромосомных пэинтов было выполнено на модельных объектах эукариот (млекопитающих, рептилиях и птицах), где либо легко могут быть получены фракции повторенной ДНК, либо количество повторов в геноме является сравнимым с таковым в геноме человека. Сложные хромосомспецифичные зонды крайне сложно применять как на видах, где произошла значительная амплификация рассеянных повторов (например, прямокрылые, хвостатые амфибии, растения), так и на хромосомах, содержащих крупные гетерохроматиновые блоки (например, морская свинка). Представ-

ленная работа предлагает новый метод, позволяющий решать проблемы, вызванные присутствием высокоповторенной ДНК, *in silico*. Автор разработал уникальную программу, значительно расширяющую возможности молекулярной цитогенетики, и имеющую огромное количество приложений, как в исследовательских проектах, так и в клинической цитогенетической практике.

Общая оценка работы

В первую очередь необходимо подчеркнуть оригинальность работы. Несмотря на очевидную значимость результатов работ по разработке методов визуализации в современной биологии, подобных работ на пересечении молекулярной цитогенетики и компьютерного анализа пока не проводилось и хочется надеяться, что это направление будет продолжено.

Диссертация написана хорошим языком по стандартной схеме, представлена на 139 страницах машинописного текста. Список литературы состоит из 189 ссылок. Большинство цитированных материалов опубликованы в последние годы в ведущих научных журналах по данной тематике.

В первой главе, изложенной на 43 страницах, приведен **обзор литературы** посвященный общему описанию методов гибридизации нуклеиновых кислот *in situ*, анализу состава геномов эукариот и их избыточности, а также проблемам при исследовании таких геномов молекулярно-цитогенетическими методами и способам решения этих проблем.

Во второй главе на 25 страницах приведено описание метода *vissis*, предложенного в данной работе. Здесь подробно приводятся основные принципы обработки изображений, включая сегментацию объектов, их классификацию и калибровку интенсивности сигналов.

Третья глава описывает **применение предложенного метода**. Глава изложена на 32 страницах и содержит 14 рисунков и 8 таблиц. В главе подробно с хорошим иллюстративным материалом изложены основные результаты проведенной работы.

Заключение занимает три страницы и резюмирует полученные результаты, сопоставляя их с ранее полученными данными.

Выводы работы хорошо сформулированы и подтверждены адекватно иллюстрированным экспериментальным материалом.

Автореферат написан хорошо и полностью соответствует диссертационной работе.

Научно-практическая значимость

Разработанная программа является серьезным вкладом в развитие молекулярной цитогенетики и расширяет список возможных приложений метода хромосомного пэйнтинга для широко ряда объектов с высоким содержанием повторенной ДНК в геноме. Кроме того, потенциально программа может быть использована в клинической цитогенетике (включая пренатальную и предимплантационную диагностику) для улучшенной визуализации сигналов, что особенно критично для нестандартных препаратов в цитогенетике рака. Совершенно очевидно, что применение метода позволит серьезно снизить уровень затрат на проведение исследования ввиду высокой стоимости коммерчески доступного и зарегистрированного для такого анализа препарата «Human Cot1».

Полученные научные результаты по эволюции половых хромосом саранчовых и особенностям эволюции геномов трематод, а также по особенностям состава хромосом человека и методам улучшения визуализации сигналов могут быть использованы при чтении курсов лекций в ВУЗах, например, в Московском, Новосибирском, Санкт-Петербургском и других университетах.

Общие замечания

В работе иногда встречаются опечатки, пунктуационные ошибки и громоздкие фразы, что неизбежно для оригинальных работ и не снижает ценности.

Пятой целью работы является апробация метода на представителях видов, чьи геномы «в несколько раз отличаются от человека по размеру». Здесь лучше было бы конкретизировать, что берутся геномы с разным относительным содержанием повторенных элементов (как более высоким, так и более низким), ведь отличия в размере геномов могут быть и у видов, почти не отличающихся по содержанию повторенной фракции ДНК.

В положениях, выносимых на защиту, следовало бы указать результаты, полученные на хромосомах плоских червей и хромосомах человека с разным составом повторенной ДНК.

На стр. 26 употребляется выражение «для супрессии требуется ...большой объем Cot ДНК», лучше было бы говорить о высокой концентрации или большом количестве.

В пятом выводе указано, что метод может использоваться для исследования организмов, у которых «CISS-гибридизация не может быть выполнена по объективным причинам». Стоило бы все же описать конкретные объективные причины (например, трудность получения Cot).

В качестве рекомендации можно добавить, что, несмотря на убедительную демонстрацию высокого качества разработанного метода для анализа FISH изображений для

трех типов животных с разным размером генома, данную работу бы сильно украсило привлечение в качестве внешней группы представителя растений (где имеются проблемы с локализацией отдельных генов из-за огромного содержания повторенных последовательностей), а также применение метода не только к анализу хромосомспецифических библиотек, но и к анализу сигналов зондов ВАС.


Высказанные замечания касаются в основном редактирования и стилистических улучшений, но совершенно не умаляют научных достоинств работы А.Г. Богомолова.

Заключение

Диссертация Богомолова Антона Геннадьевича «Разработка метода визуализации хромосомспецифичных последовательностей ДНК при проведении FISH», представленная на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 — математическая биология, биоинформатика, обладает выраженной научной новизной. Выводы хорошо обоснованы полученными данными. Результаты опубликованы в виде пяти публикаций в реферируемых научных журналах и обсуждены на международных конференциях, по результатам получены два авторских свидетельства. Представленная работа по научной новизне, актуальности, теоретической значимости и другим параметрам полностью соответствует пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ, а ее автор, Богомолов Антон Геннадьевич, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 — математическая биология, биоинформатика.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на семинаре Отдела разнообразия и эволюции животных от 19 апреля 2019 г., протокол № 83.

Заведующий лабораторией сравнительной геномики
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной и клеточной биологии
Сибирского отделения Российской академии наук,
к.б.н.



В.А. Трифонов
22 апреля 2019 г.

ФГБУН ИМКБ СО РАН
Пр. ак. Лаврентьева, 8/2
630090, г. Новосибирск
Тел: 8 (383)3639078
<http://www.mcb.nsc.ru>



Специальность лица, утвердившего отзыв (д.б.н. Демакова С.А.), – 03.02.07 – генетика.