

Отзыв на диссертацию Фишмана Вениамина Семеновича «СРАВНЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМОВ ФИБРОБЛАСТОВ И СПЕРМАТОЗОИДОВ МЫШИ МЕТОДОМ HI-C», представляемую на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Работа Фишмана В.С. посвящена исследованию укладки хромосомной ДНК в ядре и степени консервативности этой укладки в разных клеточных типах. На множестве примеров показано, что конформация хромосом влияет на протекание генетических процессов, однако ряд аспектов, относящихся, в первую очередь, к регуляции трехмерной организации хромосом в ядре, вызывает еще много вопросов. Наиболее изученной системой в этом отношении является формирование петли, сближающей промотор со специфическим энхансером, однако полногеномных данных, исследующих крупномасштабную укладку хромосом пока явно недостаточно, поэтому тема работы представляется актуальной.

Автор провел масштабную работу по сравнительному анализу данных, полученных методом Hi-C для фибробластов и сперматозоидов мыши. Эти типы клеток, вероятно, являются наиболее отличающимися в пределах одного организма, как по цитологическим признакам, плоидности, регуляции генов и физиологическим свойствам, так и по организации хромосом – в фибробластах нити ДНК упакованы с помощью гистонов, которые в сперматозоидах заменяются протаминами. В этих клеточных типах можно было бы ожидать существенных отличий в расположении хромосом и их топологически ассоциированных доменов (ТАД), однако в представленной работе показано, что пространственная укладка хромосом очень похожа. Этот вывод можно считать важнейшим в этой работе.

Представленная работа написана по классической схеме и содержит все необходимые разделы. Во Введении автор аргументирует актуальность проблемы, ставит основные вопросы, формулирует цели и задачи исследования, отмечает новизну, теоретическую и практическую значимость, а также личный вклад автора. Этот раздел также содержит список публикаций автора из 3 статей в рецензируемых журналах, в том числе в высокорейтинговом журнале *Genome Biology*.

Обзор литературы отражает имеющуюся на настоящий момент информацию об укладке хроматина в ядре. Описаны основные типы хроматиновых доменов, их свойства в отношении содержащихся в них генов, а также возможные механизмы их формирования инсуляторными белками и когезином. Отдельная глава подробно описывает методические подходы для анализа конформации хроматина на разных масштабах. Обзор хорошо структурирован, написан с использованием современных публикаций по теме в авторитетных научных журналах и представляет самостоятельную ценность в качестве справочного материала. Информация, содержащаяся в этом разделе достаточна для погружения в тематику диссертационной работы.

Раздел Материалы и методы акцентирован на многочисленных статистических и биоинформатических методах, использованных для оценки качества, фильтрации и анализа экспериментальных данных Hi-C. Приятно удивляет разнообразие подходов и их подробное описание, которое позволяет разобраться в проведенном непростом анализе.

Раздел Результаты описывает подробный и разносторонний анализ данных Hi-C, полученных для фибробластов и сперматозоидов мыши. На первых этапах построены и проанализированы матрицы пространственных контактов для всего генома. Анализ показал наличие характерных компартментов (А и В доменов), а также позволил выявить ТАДы в обоих типах клеток. Уже на этом уровне оказалось, что сходство пространственной организации хромосом в изученных клеточных типах удивительно велико. На следующем этапе был проведен прицельный поиск отличий в полученных матрицах. Этот анализ позволил оценить степень различий и выявил наиболее сильно отличающиеся участки. Что интересно, хромосома 19 имеет аномально высокое количество таких участков. Наконец, был проведен оригинальный анализ зависимости частот контактов от степени компактизации хромосом в ядре. Как оказалось, часть выявленных отличий в укладке хромосом в фибробластах и сперматозоидах объясняется большей компрессией хромосом в последних.

Раздел Обсуждение написан с акцентом на использованные методические подходы. Положительным моментом является критический подход к полученным данным, а также обсуждение их разрешения и сопутствующих ограничений.

Итог работы сформулирован в конце диссертации в виде 7 выводов, которые полностью соответствуют поставленным задачам и логично отражают содержание работы.

Список литературы оформлен по всем правилам ведущего российского журнала "Генетика".

В целом представление материала позволяет сделать вывод о решающем вкладе автора в представляемую к защите работу. Содержательная часть проиллюстрирована рисунками и таблицами. Основные результаты опубликованы в статьях в научных журналах и представлены на конференциях. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертационной работы.

В числе достоинств работы хочется отметить удачный выбор модельных объектов для сравнения хромосомной укладки. Необычайно высокое сходство хромосомных доменов в настолько отличающихся типах клеток позволяет оценить масштаб, на котором все клетки организма уже практически неотличимы друг от друга по принципиальной схеме расположения хромосом в ядре. Сравнение с ранее опубликованными данными других исследователей подтверждает эту мысль. Проведенный биоинформатический анализ свидетельствует о высоком уровне профессиональной подготовленности автора. Работа написана хорошим языком и содержит лишь немного опечаток и стилистических неточностей.

По содержанию работы есть несколько замечаний. Несмотря на исчерпывающий анализ данных Hi-C, автор не проводит никакого функционального анализа обнаруженных отличий. Можно было бы ожидать, что районы генома, отличающиеся между фибробластами и сперматозоидами отличаются также по регуляции активности генов или по характеристикам хроматина (в случае сперматозоидов – на предыдущих стадиях сперматогенеза). Возможно, отсутствие этого анализа связано с какими-то объективными препятствиями, в этом случае это можно было бы обсудить. В настоящем виде работа носит в существенной мере описательный характер.

Раздел Обсуждение кажется немного перегруженным техническими деталями, относящимися к использованному аналитическому инструментарию. Вызывает недоумение последний раздел обсуждения относительно роли

сперматозоидов в передаче информации об архитектуре ядра через поколения. Представленные результаты не позволяют отдать предпочтение сперматозоидам в этом процессе. Из общих соображений кажется, что на эту роль больше подходит яйцеклетка, в которой, по-крайней мере, хромосомы содержат гистоны. Но вообще, вопрос о механизмах наследования хромосомной укладки лежит за пределами представленной работы.

Первое предложения вывода №3 по смыслу повторяет вывод №7.

К мелким замечаниям можно отнести необоснованное использование жаргонизмов.

Несмотря на это, выполненная работа свидетельствует о высоком уровне профессионализма и увлеченности автора, а указанные замечания не умаляют достоверности и значимости полученных результатов.

Таким образом, диссертационная работа Фишмана В.С. «СРАВНЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМОВ ФИБРОБЛАСТОВ И СПЕРМАТОЗОИДОВ МЫШИ МЕТОДОМ HI-C», представляемая на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика соответствует критериям и требованиям, установленным п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор Фишман Вениамин Семенович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

к.б.н., зав. лабораторией геномики
Институт молекулярной и
клеточной биологии СО РАН

С.Н. Белякин

30.09.2015

пр-т ак. Лаврентьева 8/2
630090 Новосибирск
Тел.: (383) 363-90-42
e-mail: belyakin@mcb.nsc.ru

