

ФАНО РОССИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ГЕНА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
(ИБГ РАН)

Вавилова ул., 34/5, Москва, 119334  
Тел.: 8(499)135-60-89; 8(499)135-98-84 Факс: 8(499)135-41-05  
<http://www.genebiology.ru>; e-mail: [info@genebiology.ru](mailto:info@genebiology.ru)  
ОКПО 00244660 ОГРН 1027739618037 ИНН 7736020369 КПП 773601001



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИБГ РАН,  
академик П.Г. Георгиев

« 23 » сентября 2015 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

**Фишмана Вениамина Семёновича**

**«Сравнение пространственной организации геномов фибробластов и сперматозоидов мыши методом Hi-C», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика**

Развитие полногеномных методов картирования топологии хроматина (в первую очередь метода Hi-C и его производных) позволило выявить взаимосвязь между укладкой генома и его функциональной активностью. В частности, было показано, что хромосомы млекопитающих, дрозофилы и делящихся дрожжей состоят из чередующихся участков в той или иной степени плотно упакованного хроматина (т.н. контактных доменов, или топологически ассоциированных доменов, или ТАДов), содержащих определенные наборы эпигенетических меток, и более коротких участков хроматина, не обнаруживающих выраженной пространственной структуры.

Позиции ТАДов высоко консервативны в разных клеточных линиях одного организма и в синтенных областях геномов близкородственных видов. Хотя механизмы формирования ТАДов у млекопитающих и их функциональная роль до сих пор не вполне ясны, значительный прогресс в этих исследованиях был достигнут буквально за последние два года.

Подавляющее большинство работ по исследованию 3D-структуры хроматина проводится сегодня на раковых (или, по крайней мере, делящихся) соматических клеточных линиях в силу того, что они просты в культивировании и для многих из них доступны обширные эпигенетические данные. В этой ситуации возникает очевидный пробел в наших знаниях о структуре хроматина в герминальных клетках и в соматических клетках, находящихся в стадии G0. Представленная на рассмотрение диссертационная работа В. С. Фишмана является первым в мире полногеномным исследованием топологии хроматина в половых клетках млекопитающих с использованием метода Hi-C, что и определяет актуальность данной работы.

Основной результат, полученный в диссертационной работе, заключается в том, что пространственная организация хроматина имеет высокую степень сходства в сперматозоидах и фибробластах, несмотря на то, что белковый состав хроматина сперматозоидов обладает уникальными характеристиками, такими как почти полная замена гистонов на протамины. Данный результат имеет большое фундаментальное значение, поскольку указывает на возможный механизм передачи информации о способе укладки генома в ряду поколений. Важно отметить, что сравнение данных из двух типов клеток было проведено тремя разными способами, что повышает надежность выводов, сделанных из этого сравнения.

При этом автором были выявлены и различия в укладке хроматина фибробластов и сперматозоидов (около 5% взаимодействий различаются в двух типах клеток). Наиболее сильные различия характерны для 7 локусов, расположенных на 5, 12, 13 и 19 хромосомах. Биологическая значимость этих различий остается неясной (главным образом, из-за скудности эпигенетических данных для сперматозоидов), однако это важный результат, поскольку указывает на то, какие области генома сперматозоидов в



дальнейшем должны быть подвергнуты более детальному изучению – как в плане топологии, так и в плане характеристики их эпигенетического статуса.

Среди сильных сторон представленной диссертационной работы следует особо отметить следующие:

1. Была использована достаточно сложная в исполнении молекулярно-биологическая методика картирования топологии хроматина. Данные, полученные в экспериментах, имеют высокое качество, что может быть оценено по большой доле прочтений секвенирования, прошедших все процедуры фильтрации и использованных для построения карт.

2. Данные экспериментов были подвергнуты сложному и разностороннему биоинформатическому анализу, выполненному автором лично, что свидетельствует о его высоком профессионализме в этой области.

3. В процессе обработки данных автором был предложен новый нестандартный подход для оценки влияния глобального уровня компактизации и локус-специфичных эффектов на структуру хроматина (модель «компрессии» генома).

Диссертационная работа состоит из введения, 4 разделов, выводов, списка использованных источников и изложена на 113 страницах машинописного текста, содержит 14 рисунков, 2 таблицы и 3 приложения. Список использованных источников включает 113 наименований. Диссертационная работа написана ясным языком, хорошо структурирована и оформлена, что способствует легкому восприятию изложенного материала вне зависимости от его сложности.

Тем не менее, по прочтении работы мы считаем целесообразным высказать следующие замечания:

1. В разделе «Материалы и методы» следовало бы подробнее описать непосредственно выполнение экспериментов – манипуляции с клеточным материалом и протокол ТСС. Хотя автор не является главным исполнителем экспериментов, он принимал участие в их постановке (что указано в разделах «Личный вклад автора» и «Материалы и методы»), а значит диссертационная работа должна содержать их описание.

2. Обзор литературы крайне скудно иллюстрирован (содержит один рисунок довольно технического толка). Нам представляется, что по этой причине читатель, ограниченно знакомый с тематикой работы, может испытывать определенные трудности с восприятием излагаемого материала.

3. В разделе «Теоретическая и практическая значимость исследования» автор утверждает, что на сегодняшний день полногеномные карты пространственной организации хроматина получены для трех типов мышинных клеток: ESC, клеток кортекса и клеток печени. Мы должны заметить, что в исследовании Rao et al. (2014), подробно обсуждаемом в тексте диссертационной работы, была построена Hi-C карта высокого разрешения (5 т.п.н.) для В-лимфобластов мыши линии CH12-LX.

4. В разделе «Анализ TAD-доменов в геномах сперматозоидов и фибробластов» утверждается, что в ряде случаев соседние ТАДы в фибробластах сливаются в один единый ТАД в сперматозоидах. Однако никакими статистическими данными это утверждение не подкреплено.

5. В списке работ по теме диссертации вместо ссылки на переводную версию статьи, опубликованную в Russian Journal of Genetics: Applied Research (№2), правильнее было бы привести ссылку на оригинальную версию статьи, опубликованную в Вавиловском журнале генетики и селекции (Том 18, Номер 2, Год 2014, Страницы 338-344).

Необходимо отметить, что данные замечания ни в коей мере не снижают ценности данной работы и не ставят под сомнения выводы, сделанные в ней.

Подводя итог, можно сказать, что автором были использованы самые современные биохимические и биоинформатические методы картирования топологии хроматина, что позволило получить результаты, вносящие заметный вклад в современные представления о пространственной организации генома и механизмах ее поддержания. Диссертационная работа В. С. Фишмана апробирована на двух конференциях, ее материал в полной мере представлен в трех публикациях в рецензируемых журналах, один из которых (Genome Biology) является высокорейтинговым зарубежным изданием. Результаты работы могут быть использованы в Институте



молекулярной генетики РАН, Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, на биологическом факультете МГУ и в ряде других научных учреждений.

Содержание диссертации должным образом отражено в автореферате и опубликованных работах. Выводы носят конкретный характер, соответствуют поставленным задачам и адекватно отражают полученные результаты.

Диссертация В. С. Фишмана «Сравнение пространственной организации геномов фибробластов и сперматозоидов мыши методом Hi-C», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 (генетика), удовлетворяет всем предъявляемым требованиям, а сам автор несомненно достоин присуждения искомой степени.

Диссертация соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения научных степеней» и представляет собой научно-квалификационную работу, имеющую существенное значение для таких областей молекулярной биологии, как эпигенетика и исследования структуры хроматина эукариот.

Отзыв на диссертационную работу В. С. Фишмана обсужден и одобрен на совместном семинаре Лаборатории структурно-функциональной организации хромосом ИБГ РАН и Группы пространственной организации генома ИБГ РАН 22 сентября 2015 года (Протокол № 8).

Руководитель Группы пространственной  
организации генома ИБГ РАН  
к.б.н. А. А. Гаврилов  
aleksey.a.gavrilov@gmail.com  
+7(499)1359787

ПОДПИСЬ А.А. Гаврилова  
ЗАВЕРЯЮ  
Ученый секретарь ИБГ РАН Мансурова Г.В.