

## ОТЗЫВ

### на автореферат диссертации

Лукьянчиковой Варвары Алексеевны

«Особенности трехмерной организации хроматина  
у представителей комаров рода *Anopheles*»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.22 - «клеточная биология»

Диссертационная работа Лукьянчиковой Варвары Алексеевны посвящена изучению пространственной организации ядерного генома некоторых представителей малярийных комаров *Anopheles*. Известно, что пространственная организация генома в клеточного ядре играет определенную роль в регуляции транскрипции генов главным образом путем упорядочивания регуляторных и синтетических процессов. Несмотря на то, что истории изучения пространственной организации ядра уже более 120 лет, серьезный прогресс в этой области наблюдается только с конца 1990-х годов, с появлением и широким применением конфокальной микроскопии. Развитие технологий высокопроизводительного секвенирования в последние 15 лет позволяет проводить анализ пространственной организации геномов организмов в полногеномном масштабе и с беспрецедентным уровнем разрешения. В настоящее время наиболее информативным является последняя версия линейки методов «конформационного захвата» – Hi-C. Этот подход позволяет проанализировать взаимодействия всех локусов генома со всеми, то есть получить исчерпывающую информацию о контактах в пространстве ядра. Секвенирование и качественная сборка геномов немодельных организмов, к которым относятся и малярийные комары *Anopheles* делают возможным изучение пространственной организации геномов таких видов, расширяя наши представления о значении этого уровня организации. С другой стороны, Hi-C может быть использован для улучшения геномных сборок, приближая их качество к полнохромосомным – «от теломеры до теломеры».

Пространственная организация хромосом малярийных комаров изучается уже около полувека в Томском государственном университете в лаборатории д-ра биол. наук В. Н. Стегния, где впервые были исследованы межвидовые различия в пространственной организации полигенных хромосом трофоцитов яичников комаров. Работа Варвары Алексеевны значительно продвигает исследования проблемы пространственной организации ядра, структурных перестроек, а также эволюции малярийных комаров. Она лично и коллеги, участвовавшие в работе, впервые провели Hi-C для нескольких видов комаров, находящихся в разных позициях эволюционного древа, что позволяет условно экстраполировать результаты исследования на представителей всего рода *Anopheles*.

Автору удалось продемонстрировать, что для *Anopheles* выделяются те же типы контактных доменов, что и для дрозофил и других организмов – А- и В-компарменты, хроматиновые домены и топологически-ассоциированные домены (ТАДы), а также получены свидетельства дальних контактов – гигантских петель, образующихся для пространственного сближения генов группы *Polysomb*. Полученные автором данные о более частом взаимодействии отдельно прицентромерных и прителомерных районов хромосом, чем с остальными районами, свидетельствуют о преимущественно Рабль-ориентации хромосомных плечей в ядрах эмбриональных клеток. Однако Варварой Алексеевной впервые найдены и нетипичные для дрозофил дальние взаимодействия, не связанные с активацией транскрипции известных генов, а

наоборот ассоциированных с признаками репрессии транскрипционной активности. Гены, обнаруженные в окрестностях сближенных районов в таких петлях, отвечают за важные, с точки зрения контроля численности малярийных комаров, устойчивость к инсектицидам и формирование иммунной системы комаров.

Отдельно хотел бы отметить результаты работы Варвары Алексеевны, связанные с улучшением сборок геномов малярийных комаров и обнаружением новых инверсий у *An. atroparvus* и, особенно, *Aedes aegypti*. В тексте работы утверждается (и на это есть основания), что геномные сборки были улучшены. Тем не менее не все приведенные в таблице 1 характеристики N50 новых и предшествующих сборок геномов свидетельствуют об этом. Важным результатом является обнаружение новых хромосомных инверсий у комаров, которые могут быть связаны с адаптивными признаками у этих видов. Если обнаружение новой инверсии у *An. atroparvus* в 2L плече – интересный результат, то открытие и подтверждения наличия инверсий в разных популяциях *Aedes aegypti* – это значимый вклад в цитогенетику комаров и важное доказательство распространения этого типа хромосомных перестроек среди представителей переносчиков широкого круга опасных заболеваний человека. Этот результат тем более важен, так как автором было выявлено, что в границах одной из инверсий обнаружены гены, отвечающих за переключение способности реагировать на запахи прокормителей – животных и человека.

Работу выполнена на высоком методическом уровне, ее украшают разнообразие привлеченных методов – Chip-Seq, транскриптомный анализ и 3D-FISH, дополняющих полученные данные Hi-C.

Отдавая должное высокой значимости полученных Варварой Алексеевной результатов, тем не менее следует отметить главный недостаток автореферата – небрежное отношение к представлению и оформлению результатов работы. Так, автор использует необычные словосочетания, наиболее яркие примеры которых следующие: «длина генома в хромосоме», «графики насекомых», «скорость изменения графика», «иммунопреципитация за метки», «полиморфных геномных инверсий», «дистальные контакты ДНК», «резкость падения пиков», «вытянутая сферическая форма». Очевидно, неправильное использование перевода английского слова «colony» как «колония» (на русский язык следует переводить как лабораторная культура [комаров]), , привело к появлению в тексте, вызывающих ассоциации с давно минувшими событиями мировой истории – понятий «африканские колонии» и «колонии Нового Света». В тексте автореферата недостает ссылок на литературные источники, где они действительно требуются: в параграфе «Актуальность работы» используется лишь одна ссылка, нет ссылок на хромосомную карту *An. atroparvus* как и идеограмму на рисунке 3. Кроме того, не учтен вклад «коллег под руководством Марии Шараховой» в параграфе «Личный вклад автора», хотя на рисунке 3 их данные приводятся. Перечисленные мною и другие неточности затрудняют восприятие содержательной части работы и порою вводят в заблуждение.

Для уточнения понимания автором результатов и особенно их интерпретации, прошу Варвару Алексеевну ответить на следующие вопросы:

1. Как вы считаете, что именно является организующим фактором в образовании компартментов – модификации гистонов, активность транскрипции или другие, например, генетические? (к утверждению: «в пространстве ядра наблюдается кластеризация активных и неактивных компартментов, соответствующих характерным модификациям гистонов и активности транскрипции»).

2. В чем может заключаться «уникальность молекулярного механизма» образования «дальних петель» у малярийных комаров по сравнению с механизмами формирования ТАДов или дальних контактов у дрозофилы? (к утверждению: «дальние петли хроматина у малярийных комаров могут являться одним из вариантов взаимодействий, опосредованных белковыми комплексами PRC1/PRC2, в сочетании с особым эпигенетическим ландшафтом и исключительной биологической функцией и формируются за счет уникального, не описанного ранее, молекулярного механизма»).
3. Почему в результате улучшения сборок геномов *Anopheles albimanus*, *An. atroparvus* и *An. stephensi* с помощью библиотек Hi-C показатели N50 оказались меньше, чем они были до того, как это улучшение было проведено? (к данным таблицы 1 автореферата)
4. В каких случаях хромосомная территория может иметь форму цилиндра, где у цилиндра минимальный радиус и с чем связана специфичность этого параметра у насекомых, птиц и млекопитающих? (к утверждению: «резкость падения пика во второй фазе, по нашему предположению, может отражать цилиндрическую форму хромосомных территорий, существующих в интерфазе, минимальный радиус которых специфичен для насекомых, птиц и млекопитающих»).

Не смотря на отмеченные выше недочеты представления результатов исследования, я считаю, что диссертация Лукьянчиковой Варвары Алексеевны является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствует требованиям действующего «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени по специальности 1.5.22 - «клеточная биология»

Доцент кафедры генетики и клеточной биологии  
федерального государственного автономного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Национальный исследовательский  
Томский государственный университет»  
(634050, г. Томск, пр. Ленина, 36;  
(3822) 52 -98-52; rector@tsu.ru; www.tsu.ru),  
кандидат биологических наук (03.02.07 – Генетика)

Артемов Глеб Николаевич

14.10.2022

Подпись Г.Н. Артемова удостоверяю  
Ученый секретарь Ученого совета НИИ ГГУ

Н. А. Сазонтова



6x 2171/54  
15.10.2022