

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Лукьянчиковой Варвары Алексеевны  
«Особенности трехмерной организации хроматина у представителей комаров рода  
*Anopheles*»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 1.5.22. – Клеточная биология

Диссертационная работа Лукьянчиковой В.А. посвящена актуальной теме – изучению архитектуры хроматина у пяти видов комаров рода *Anopheles*. Упаковка хромосом в трехмерном пространстве ядра на сегодняшний день детально изучена лишь у некоторых модельных организмов. Поэтому исследование организации хроматина у представителей рода *Anopheles* является важной задачей, решение которой необходимо для понимания общих закономерностей в эволюции упаковки хромосом у всех живых существ. Диссертационная работа суммирует и обобщает результаты исследований автора, опубликованные в виде двух оригинальных статей, и ещё одной статьи, находящейся на финальной стадии рецензии в высокорейтинговом международном журнале.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, выводов и библиографии. Общий объем диссертации 167 страниц, включая 33 рисунка и 9 таблиц, а также 397 цитированных источников. Во *Введении* сформулирована цель работы, обоснована ее актуальность, научная новизна и практическая значимость, перечислены выносимые на защиту положения. В *Обзоре литературы* приведен подробный анализ современной литературы по темам, рассмотренным в диссертации. Хотелось бы отдельно отметить полноту литературного обзора, качество изложения материала и грамотность текста в этом разделе, как и в последующих разделах диссертационной работы. В *Материалах и методах* подробно изложены все методы, которые были использованы автором в ходе выполнения диссертационной работы. Экспериментальные протоколы изложены детально и содержат все необходимые подробности для понимания и воспроизведения результатов работы. В *Результатах* изложена подробная характеристика особенностей пространственной организации хроматина у пяти видов комаров рода *Anopheles*, в точном соответствии с поставленной целью диссертационной работы. В частности, описаны:

- оптимизированная процедура Hi-C для применения на эмбрионах комаров;
- сборка геномов пяти видов анофелесов до хромосомного уровня;
- анализ структур пространственной организации хроматина: ТАДов, хроматиновых петель и компартментов;
- хромосомные aberrации, характерные для представителей комаров рода *Anopheles*;
- результаты применения методов 2D-FISH и 3D-FISH;
- сравнение с данными об организации хроматина для других организмов.

В *Обсуждении* обобщены основные результаты работы, сформулировано заключение и перечислены выводы. Выводы обоснованы, следуют из результатов и соответствуют поставленным задачам.

Несмотря на высокое качество диссертационной работы в целом, у меня есть несколько вопросов и замечаний.

1. Не присутствуют ли в разделе 2.4 *Сборка геномов* элементы кольцевой логики? Автор сначала использует данные Hi-C, чтобы улучшить качество сборки геномов, а затем использует те же данные, чтобы детектировать инверсии на основе тех же геномных сборок. Не могут ли найденные инверсии оказаться тривиальными ошибками сборки?
2. В разделе 3.4.3 *Характеристика выделенных структур: домены и хроматиновые петли* представлены данные Hi-C прекрасного качества, на которых отлично видны хроматиновые петли. К сожалению, их характеристика основана только на нескольких примерах. На мой взгляд, здесь не хватает систематического полногеномного анализа: необходимо построить среднюю петлю, средний профиль гистоновых меток вокруг всех петель в геноме, статистически оценить значимость обогащения, сравнить со случайным контролем. Иначе анализ выглядит несколько незавершенным.
3. Было бы интересно получить результаты такого же систематического анализа не только по хроматиновым петлям, но и по ТАДам.
4. Кроме того, в работу стоило бы добавить и следующий недостающий анализ, раз у авторов есть данные Hi-C по 5 родственным видам комаров. Если посмотреть на синтенные области в геноме, сохраняются ли позиции ТАДов между видами? Если нет, то почему? Потому что появляется видоспецифичная эксперессия или гистоновые модификации? Можно посмотреть на функции генов в местах генома с видоспецифичной упаковкой хроматина, попытаться сопоставить функции генов с видовыми адаптациями. Аналогичный анализ можно было бы проделать и с петлями.
5. Особенно интересны в контексте предыдущего замечания инверсии, найденные автором в данной работе. Участок хромосомы перевернулся, но сохранились ли в нем позиции ТАДов и хроматиновых петель? Как поменялась эксперессия? Можно ли связать такие изменения (если они есть) с адаптациями?
6. В разделе 3.5 *Интенсивные дальние взаимодействия хроматина, специфичные для комаров *Anopheles*. Их визуализация на картах пространственных контактов и подтверждение методом FISH* указано: «Однако, результат ChIP-seq-эксперимента за гистоновые метки H2AK119Ubiq и H3K27me3, связанные с репрессированием хроматина комплексами белков группы поликомб PRC1 и PRC2, а также за гетерохроматиновую метку H3K9me3 не выявил уникального обогащения в основаниях дальних петель, обнаруженных нами у комаров рода *Anopheles* (Рисунок 29, А - Г).» Здесь также не хватает систематического анализа. Примеров недостаточно, чтобы говорить про наличие/отсутствие обогащения, нужен полногеномный анализ и аккуратная проверка статистической значимости.
7. Не могут ли быть дальние петли, обсуждаемые в работе, простыми дупликациями? Теоретически, если по какой-то причине в референсном геноме оказалась только одна копия дублированного участка (ошибка сборки?), а у реального комара в геноме две копии этого участка, то на карте Hi-C такая ситуация будет представлена как удвоенное количество ридов, что по карте идентично возросшей частоте контакта.

С моей точки зрения, эти замечания не снижают качество работы и не уменьшают научную значимость полученных результатов. В целом, диссертация Лукьянчиковой Варвары Алексеевны представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, выполненную на высоком научном уровне. Все результаты, полученные автором, подтверждены экспериментально с использованием разных подходов, и являются достоверными. Выводы обоснованы и соответствуют содержанию работы. Автореферат и

статьи автора полностью отражают содержание диссертации. Полученные автором данные являются новыми и актуальными, они расширяют представления об архитектуре хроматина у немодельных организмов.

Считаю, что диссертационная работа Лукьянчиковой Варвары Алексеевны выполнена на высоком научном и методическом уровне. По актуальности, степени обоснованности научных положений и выводов, их достоверности и новизне, диссертация полностью соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор Лукьянчикова Варвара Алексеевна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология.

### **Храмеева Екатерина Евгеньевна**

Официальный оппонент,

Кандидат биологических наук по специальности 03.01.09 - Математическая биология, биоинформатика (биол. науки); старший преподаватель Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологий»; 121205, г. Москва, Большой бульвар, д. 30, с.1; тел.: +7 (495) 280 14 81; e-mail: e.khrameeva@skoltech.ru

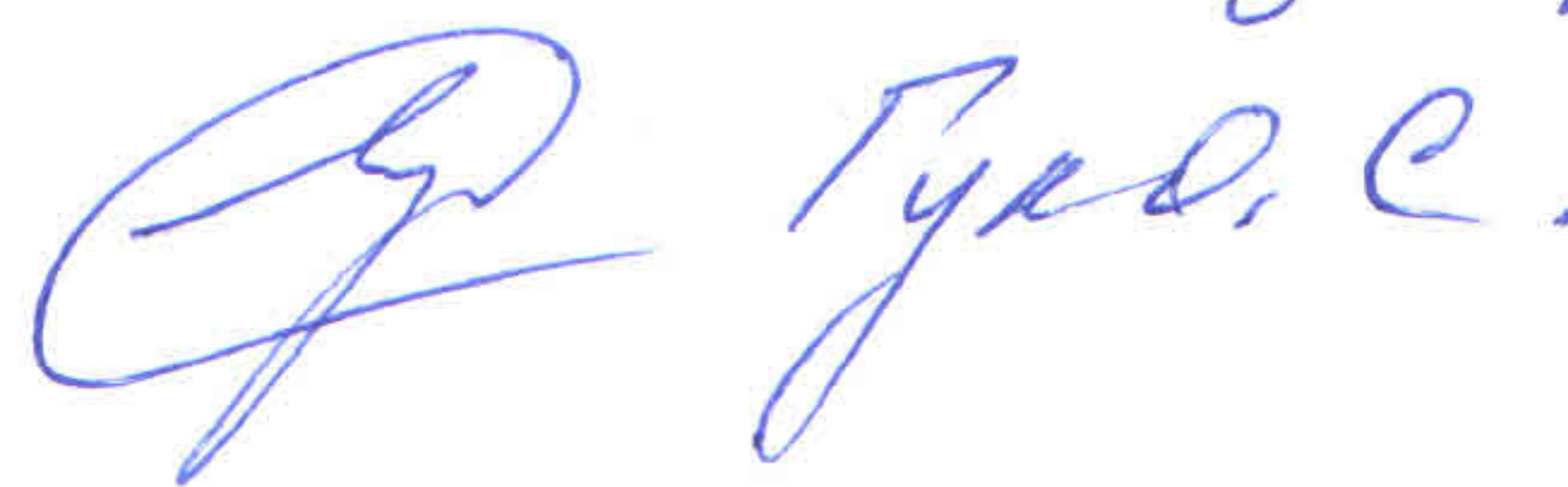
Дата: «03» октября 2022 г.



(подпись)



*Подпись Храмеевой Е.Е. подтверждаю*  
РУКОВОДИТЕЛЬ ОТДЕЛА  
КАДРОВОГО АДМИНИСТРИРОВАНИЯ



вх 2171/44  
06.10.2022