

МИНОБРНАУКИ 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

e-mail: info@genebiology.ru; <http://www.genebiology.ru>

ОКПО 00244660 ОГРН 1027739618037 ИНН/ КПП 7736020369/773601001

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

Институт биологии гена
Российской академии наук,
академик РАН,
д-р биол. наук,
профессор

Георгиев П.Г.

13 октября 2022 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук на диссертационную работу Лукьянчиковой В.А. «Особенности трехмерной организации хроматина у представителей комаров рода *Anopheles*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология

Основные научные результаты и их актуальность для науки и практики

Диссертационная работа Лукьянчиковой Варвары Алексеевны посвящена исследованию особенностей пространственной организации хроматина у малярийных комаров. Согласно современным представлениям, 3D-структура генома тесно связана со многими клеточными процессами, в том числе с активностью транскрипции, репликации, репарации повреждений ДНК. 3D-геномика позволяет исследовать архитектуру хроматина используя методы массового параллельного секвенирования и высокоразрешающей микроскопии и позволяет проводить исследования на стыке таких дисциплин, как генетика, молекулярная биология, биофизика и цитогенетика.

Геномика насекомых наиболее полно исследована у представителей рода *Drosophila*, тогда как для других насекомых, имеющих важное фундаментальное и биомедицинское значение, только начинает развиваться и остается малоизученной. Одним из таких примеров являются представители рода *Anopheles*, ключевые переносчики опасных патогенов, в том числе малярийного плазмодия, *обладающие широким миграционным потенциалом*. Изучение геномов малярийных комаров позволит лучше понять процессы и ключевые механизмы, ответственные за приспособляемость к условиям среды, а также предполагаемую коэволюцию с патогенами, которых они переносят.

Большой объем проделанной работы дал автору возможность получить результаты, чрезвычайно важные для исследователей, занимающихся геномными исследованиями, а также специалистам в области малярийных комаров. В своей работе Лукьянчикова Варвара Алексеевна представила сборки геномов хромосомного уровня для пяти видов анофелесов, описала основные принципы и особенности пространственной организации генома малярийных комаров, а также показала возможность применения метода Hi-C для

картирования инверсионных перестроек у видов, где применение цитогенетических подходов существенно затруднено. Ценность и актуальность диссертационной работы не вызывает сомнений.

Научная новизна работы и практическая ценность результатов

Диссертационная работа выполнена на высоком уровне с применением как классических, так и новейших геномных методов и подходов, таких как *Hi-C*, *PacBio*-секвенирование, *FISH*, сравнение с результатами цитогенетического картирования. Объединение результатов данных подходов позволило автору получить максимально полную на сегодняшний день информацию о 3D-структуре генома малярийных комаров. Помимо классических геномных структур, включающих активные и неактивные компартменты, ТАДы, хроматиновые петли, была показана и подтверждена организация хромосом малярийных комаров по Раблю, а также впервые описаны консервативные дальние хроматиновые петли, уникальные для комаров рода *Anopheles*. В представленной работе метод *Hi-C* был впервые применен для представителей рода *Anopheles*, в результате чего геномные сборки пяти видов малярийных комаров были существенно улучшены. *Впервые с помощью метода Hi-C был проведен успешный поиск инверсий в колониях Aedes aegypti.*

Сформулированные в работе выводы соответствуют полученным экспериментальным результатам. Решение поставленных в диссертационной работе задач имеет фундаментальное значение для геномных исследований живых организмов, а также открывает возможности для решения практических задач, связанных с генетическими системами контроля, адаптивным поведением и активной миграцией комаров рода *Anopheles* на новые территории.

Диссертационная работа Лукьянчиковой Варвары Алексеевны представляет собой завершённое исследование, а достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Основные научные результаты, изложенные в данной работе, были опубликованы в известных и хорошо цитируемых журналах *Nature communications* и *GigaScience*, а также представлены на нескольких крупных международных конференциях, в том числе EMBO (2019) и CSHL (2018).

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа построена по классическому плану и состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы (397 источников) и 7 страниц приложений. Объем работы составляет 167 страниц, включая 33 рисунка и 9 таблиц. Диссертационная работа изложена грамотным языком, хорошо оформлена и читается с большим интересом. В целом по своей структуре и оформлению диссертация соответствует требованиям ГОСТ Р – 7.0.11 2011.

В Главе 1 «Обзор литературы» подробно описана история развития и накопления знаний о трехмерной организации генома у живых организмов. Поворотной вехой стало возникновение группы методов захвата конформации хроматина (3C/*Hi-C*), каждому из которых также посвящен отдельный подраздел главы. Далее подробно изложены современные представления о том, как структурирован хроматин у млекопитающих и насекомых, показаны ключевые различия, а также общность фундаментальных принципов укладки. Кроме того, в Главе 1 уделено внимание молекулярным механизмам, которые обеспечивают поддержание геномной структуры, таким как когезин-независимый механизм

фазовой сепарации, и механизм, зависимый от присутствия когезинового комплекса белков. Последний раздел Главы 1 посвящен описанию малярийных комаров, выбранных в исследование, географии их обитания, пищевым предпочтениям, развитию организма.

В Главе 2 подробно изложены методы, используемые в работе. Следует отметить впечатляющий набор подходов, которые были применены автором. Ключевым методом диссертационной работы стала технология Hi-C. Были также использованы другие молекулярные и цитогенетические подходы, такие как иммунопреципитация хроматина с последующим секвенированием (ChIP), вестерн блот, иммуноокрашивание, приготовление давленных препаратов политенных хромосом, диссекция и фиксация отдельных органов насекомых, выполнены эксперименты по 2D- и 3D-флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Глава 3 Результаты состоит из шести разделов, в каждом из которых последовательно изложены ключевые этапы диссертационной работы, и их находки. Так, автор начинает главу с описания внедренных модификаций протокола Hi-C, используемых для применения на комарах. Далее, приводит алгоритм и результаты улучшения геномных сборок для пяти видов комаров. Затем, следует подробный анализ карт пространственных контактов, построенных с использованием новых сборок, в результате чего были описаны основные принципы укладки хроматина, а также показаны уникальные для малярийных комаров структуры. Кроме того, один из разделов посвящен описанию новых хромосомных инверсий у комаров рода *Aedes*. Далее, автор приводит результаты использования независимых подходов, таких как иммунопреципитация хроматина (ChIP) и флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), для независимого подтверждения описанных структур. Наконец, в завершении главы приводится сравнение пространственной организации хроматина комаров с другими организмами.

В Главе 4 Обсуждение автор описывает как полученные результаты вписываются в существующие представления о 3D-организации хроматина, а также рассуждает о возможной интерпретации полученных данных в контексте современных открытий. Так, автор предлагает возможные механизмы, вовлеченные в формирование дальних петель, сравнивает ранее описанные хроматиновые петли с обнаруженными у анофелесов. Кроме того, обсуждается возможность применения метода Hi-C для детекции фиксированных и полиморфных инверсий в природных популяциях комаров.

Выводы работы сформулированы корректно и резюмируют проведенные исследования, полученные результаты и вытекающие из них заключения.

Автореферат диссертации также построен по стандартной схеме, хорошо оформлен и полностью отражает содержание работы.

Замечания

Принципиальных и хоть сколько-нибудь значимых замечаний к работе нет, однако обзор литературы относительно бедно иллюстрирован. Восприятие некоторых разделов (например, 1.2.2, 1.5.1 и 1.5.2) было бы проще при наличии схематичных иллюстраций описываемых явлений. Это, однако, ни коим образом не влияет на высокую оценку работы.

Заключение

Диссертация Лукьянчиковой В.А. «Особенности трехмерной организации хроматина у представителей комаров рода *Anopheles*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология, является самостоятельным научным исследованием, обладающим высоким уровнем научной новизны и вносящим существенный вклад в дальнейшее развитие такого научного направления как геномика. Результаты исследования опубликованы в трех статьях в рецензируемых научных журналах и обсуждены на нескольких крупных международных конференциях. Все выводы хорошо обоснованы полноценными данными. Представленная работа по научной новизне, актуальности, теоретической значимости и другим параметрам полностью соответствует п.п. 9-14 "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г, № 842 с изменениями от 30 июля 2014 г., 21 апреля, 2 августа 2016 г, 29 мая, 28 августа 2017 г., 1 октября 2018 г., 20 марта, 11 сентября 2021 г), а ее автор, Лукьянчикова Варвара Алексеевна, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология.

Отзыв заслушан и одобрен на межлабораторном семинаре Отдела клеточной геномики ФГБУН Институт биологии гена РАН 13 октября 2022 г.

Отзыв составил старший научный сотрудник ФГБУН Институт биологии гена РАН, кандидат биологических наук Ульянов Сергей Владимирович.

с. н. с.
лаборатории структурно-функциональной
организации хромосом
ФГБУН Институт биологии гена РАН,
к.б.н.


_____ Ульянов С.В.

Сведения о составителе отзыва: Ульянов Сергей Владимирович, кандидат биологических наук по специальности 03.01.03 «молекулярная биология», старший научный сотрудник лаборатории структурно-функциональной организации хромосом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской

Сведения о составителе отзыва: Ульянов Сергей Владимирович, кандидат биологических наук по специальности 03.01.03 «молекулярная биология», старший научный сотрудник лаборатории структурно-функциональной организации хромосом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук. Адрес: ул. Вавилова, д. 34/5 г. Москва, 119334; телефон: +7 (499) 135-97-87; адрес электронной почты: sergey.v.ulyanov@gmail.com

Сведения о лице, утвердившем отзыв: Георгиев Павел Георгиевич, академик РАН, доктор биологических наук по специальности 03.01.07 «молекулярная генетика», профессор, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук. Адрес: ул. Вавилова, д. 34/5 г. Москва, 119334; телефон: +7 (499) 135-60-89; адрес электронной почты: georgiev_p@mail.ru

Подпись Ульянова С.В. заверяю

Ученый секретарь ФГБУН Института биологии гена РАН

д.б.н.



Набирочкина Е.Н