

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу 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

В последние годы количество работ, посвященных изучению трехмерной организации геномов, активно растет. Этому способствует не только усовершенствование молекулярно-биологических и биоинформатических методов, но и понимание вовлеченности 3D-организации генома во многие важнейшие процессы, протекающие в клетке. Разработка метода Hi-C уже позволила как *de novo* провести сборки геномов новых видов, так и существенно улучшить имеющиеся сборки геномов для различных организмов, так как дала возможность изучать частоты взаимодействий всех участков хроматина в полногеномном масштабе. Актуальность данного направления исследований не вызывает сомнений, в свете понимания того, что только глубокое изучение организации геномов может лучше понять ключевые механизмы, ответственные за приспособляемость организмов к условиям среды, а также предполагаемую коэволюцию с патогенами, которых они переносят. К моменту проведения данного диссертационного исследования геномика малярийных комаров (род *Anopheles*), являющихся ключевыми переносчиками малярийного плазмодия и представляющих серьезную угрозу для человека, оставалась малоизученной.

Диссертация Лукьянчиковой В.А. построена по стандартному принципу и содержит все необходимые разделы: список сокращений и терминов, введение, главы «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение», выводы, список литературы, приложения. Работа изложена на 169 страницах, в основном тексте содержит 33 рисунка и 9 таблиц. Список литературы содержит 397 источников, все на иностранных языках. Название полностью отражает содержание работы.

«Введение» содержит основные необходимые подразделы. Автор со ссылкой на современную научную литературу обосновывает актуальность избранной темы, научную новизну и значимость исследования, но опускает, например, степень проработанности темы. Кроме того, отсутствуют еще несколько подразделов, требуемых ГОСТом 7.0.11—2011, хотя косвенно, часть информации, которая должна была в них содержаться, может быть получена из представленного введения. Цель, задачи и положения, выносимые на защиту, сформулированы четко.

Глава «Литературный обзор» написана прекрасным языком и показывает значительный интерес В.А. Лукьянчиковой к выбранной теме исследования. Автор

подробно описывает типы хроматина, не забывая упоминать разные классификации, уровни организации хроматина и методы их исследования. Также приводится информация о малярийных комарах, как объектах исследования, в свете сравнения с другими насекомыми. Пожалуй, в данной главе мне не хватило небольшого подраздела, касающегося чтения тепловых карт, поскольку информацию по отображаемым на картах структурах приходилось собирать по крупицам по всему тексту диссертационной работы. Так, например, на с. 47 упоминается возникновение второй (далее в тексте «дополнительной») диагонали, а описание этого явления дается только на с. 106.

Глава «**Материалы и методы**» содержит достаточно подробное описание всех методов, использованных в работе, и прекрасно демонстрирует высокий методологический уровень диссертационной работы. В качестве небольшого замечания отмечу лишь, что автор только вскользь упоминает о выполнении «ручной корректировки ошибок в сборках» (с. 87), но не расписывает, что включала корректировка и по каким критериям она выполнялась.

Несмотря на то, что в тесте диссертационной работы проведена разбивка результатов и обсуждения на отдельные главы, по факту граница между этими разделами смыта, так как глава «**Результаты**» содержит достаточно подробное обсуждение полученных результатов и их сравнение с данными по другим таксонам. В целом мне хотелось бы подчеркнуть впечатляющий объем проведенных В.А. Лукьянчиковой экспериментов и высокую степень новизны и научной значимости полученных автором результатов.

При прочтении возникло небольшое замечание. На с. 109 автор отмечает «линейную зависимость средней протяженности доменов от размера генома...» и ссылается на Таблицу 8, приведенную на этой же странице. Однако данные в таблице по первым трем видам не подтверждают, написанное в тексте: размер генома у *An. atroparvus* и *An. stephensi* одинаков, но средний размер доменов у них разный, при этом средний размер доменов у *An. stephensi* сходен со средним размером доменов у *An. albimanus*, у которого размер генома существенно меньше.

На с. 119 автор пишет, что формирование дальних хроматиновых петель в геномах комаров рода *Anopheles* вероятно связано с «исключительной биологической функцией». Хотелось бы услышать гипотетические предположения о том, в чем может состоять эта функция.

В главе «**Обсуждение**» приводится сравнение полученных данных с результатами ранее опубликованных работ, кроме того, автор намечает некоторые дальнейшие направления развития работ по геномике малярийных комаров. Возник один вопрос, касающийся упомянутого в тексте на с. 132 возможного эволюционного консерватизма

дальних хроматиновых петель и специфичности формируемых ими взаимодействий. Автор упоминает, что данные особенности, вероятно, «задаются уникальными и эволюционно-консервативными нуклеотидными последовательностями». Хотелось бы узнать, не проводился ли детальный анализ последовательностей?

«**Заключение**» приведено в виде подраздела в главе «Обсуждение». На мой взгляд, следовало этот раздел, представляющий собой отличную аннотацию всей диссертационной работы, выделить в отдельную главу.

В целом по основному тексту диссертации наблюдается некоторая небрежность автора к размещению и оформлению рисунков и таблиц, что несколько затрудняло работу с текстом. Практически повсеместно рисунки приведены существенно ниже их первого упоминания в тексте. Подписи к рисункам и таблицам недостаточны (отсутствие упоминания цветных маркеров, уточнения, на что указывают стрелки, отсутствие подписей осей, жирны/нежирный шрифт и т.п.). В некоторых случаях отдельные панели рисунков не подписаны или перепутаны подписи к панелям (см. рисунки 13 и 30). Нарушен порядок цитирования рисунков в тексте (после 20-го рисунка идет 27-й, затем 30-й, 31-й и 29-й и т.п.).

Основную проблему диссертационной работы В.А. Лукьянчиковой я вижу в том, что «**Выводы**», хотя они полностью достоверны и обоснованы, не соответствуют задачам работы. Так, вторая часть задачи 4 работы включала исследование комаров рода *Aedes* («расширить использование данного подхода для комаров рода *Aedes*, в том числе для поиска полиморфных и фиксированных инверсий в популяциях»), и этот большой блок работы был автором полностью выполнен. К сожалению, в выводах это не отражено.

Вывод 2, говорящий о «возможности установления границ геномных инверсий на основе методов захвата конформации хромосом», на мой взгляд, является слишком общим и не основан непосредственно на результатах данной работы, так как о таком практическом применении метода было известно и ранее. Автор и сам упоминает, что «инверсионные полиморфизмы имеют характерный паттерн на тепловых картах».

Хотя задачей 5 исследования было «подтверждение основных выявленных закономерностей 3D-организации хроматина при помощи независимых методов 2D-FISH и 3D-FISH», в выводах результаты подтверждений (а они есть в работе!) не отражены.

Также удивляет, что несмотря на то, что в разделе 3.6. главы «Результаты» приводится сравнение выявленных принципов укладки хроматина у малярийных комаров с представителями других таксонов, в том числе с птицами и млекопитающими, в вывод 6 включены данные только по представителям родов *Anopheles* и *Drosophila*.

В целом выводы охватывают лишь малую часть исследовательской работы, проведенной В.А. Лукьянчиковой, и выглядят очень скромно.

Автореферат в общем соответствует тексту диссертации, но содержит объединение глав результаты и обсуждения, разобщенных в тексте диссертации, а также включает части рисунков, не приведенные в основном тексте (рисунок 3Г автореферата).

Несмотря на замечания, работа в целом производит прекрасное впечатление. То, что автор принимал непосредственное участие практически во всех этапах работы, характеризует его, как разностороннего исследователя, способного выполнять самый различный спектр работ. Встречающиеся в тексте англицизмы, опечатки, пунктуационные, грамматические и стилистические ошибки не снижают в итоге качество работы. Все результаты, полученные в работе, являются новыми и достоверными, что подтверждается различными методами исследований. Результаты диссертационной работы, несомненно, вносят весомый вклад в развитие геномики малярийных комаров и позволяют не только приблизиться к пониманию глобальных закономерностей в эволюции 3D-укладки хроматина у живых организмов, но могут в будущем найти практическое применение для решения задач, связанных с генетическими системами контроля, адаптивным поведением и распространением комаров рода *Anopheles* по земному шару.

Таким образом, диссертация Лукьянчиковой Варвары Алексеевны является научно-квалификационной работой, по актуальности, новизне, методическому уровню, научной и практической значимости результатов соответствующей требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Доктор биологических наук по специальности
03.01.07. - Молекулярная генетика,
старший научный сотрудник Лаборатории
цитогенетики животных ИМКБ СО РАН
630090, г. Новосибирск,
Пр-т Ак. Лаврентьева, 8/2,
Тел.: +7 (383) 363-90-63
rosa@mcb.nsc.ru

10 октября 2022 г.



(подпись)

/Романенко Светлана Анатольевна/
(расшифровка подписи)

