

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации Романова Станислава Евгеньевича «Роль белков CP190 и CG9879 в регуляции генов дифференцировки сперматоцитов *Drosophila melanogaster*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика

Целью данной работы являлось изучение роли белков CP190 и CG9879 в регуляции активности генов в сперматогенезе *Drosophila melanogaster*. В автореферате изложены основные результаты работы, а также приведены сведения об актуальности работы, разработанности темы, новизне, ценности, кратко описано содержание обзора литературы и раздела «Материалы и методы».

Работа состоит из нескольких частей, которые связаны общей тематикой – регуляция экспрессии генов в сперматогенезе *Drosophila melanogaster*. В первой части работы изучается белок CP190. Автором применена уникальная система условного спасения мутантов CP190, с помощью которой стало возможно достигнуть тканеспецифичной утраты этого белка в клетках мужского зародышевого пути дрозофилы. Приведены данные микроскопии, которые демонстрируют отсутствие белка CP190 в большинстве сперматоцитов, а также экспрессию в них белка GFP как маркера успешной рекомбинации. Безусловно, данная система может широко использоваться в дальнейших исследованиях. Продемонстрировано, что CP190 важен для регуляции экспрессии более чем сотни генов, проведенный биоинформатический анализ показал, что многие эти гены относятся к tMAC-зависимой группе генов. Ранее было показано, что белок CP190 важен для поддержания границ доменов H3K27me3 в эмбрионах, поэтому были проведены соответствующие эксперименты, которые однако показали отсутствие корреляции в терминально-дифференцированных клетках дрозофилы. При этом проведены эксперименты, показывающие что другой фактор – SetDB1, гистонметилтрансфераза, имеет предрасположенность к связыванию на границах доменов H3K27me3 в исследуемых клетках.

Второй белок, который исследуется в работе – CG9879, который по предположению автора является регулятором каскада активации семенникспецифичных генов в сперматоцитах. Показано, что CG9879 колокализуется с белками Cap и Comt в клетках мужского зародышевого пути. С помощью системы CRISPR/Cas9 было проведено удаление гена CG9879, однако не наблюдали при этом каких-либо изменений в семенниках, изменения в транскриптом были минимальны (28 генов изменили экспрессию). Из этого делается вывод о том, что CG9879 не является основным регулятором масштабной активации генов в сперматоцитах.

Недостатком автореферата является краткость – на 16 страницах отображено основное содержание диссертации и приведены самые важные результаты, однако читателю, не занимающемуся данной тематикой, весьма сложно разобраться в сути работы. Не хватает введения в проблематику с более подробным описанием tMAC, tTAF, CP190, роли метилирования гистона H3K27, а также роли генов *tip40*, *bam*, *cap* в сперматогенезе (только в подписи к рисунку 6 можно найти информацию о последних 3 генах). Отсутствуют логические переходы между отдельными разделами результатов. Часть сведений приведена в основном тексте диссертации, однако ввиду отсутствия ограничения объема автореферата 16-ю страницами было бы уместно добавить подробностей о выборе моделей и в целом регуляции сперматогенеза.

Вызывает сомнения формулировка «белок CP190 прокартирован на хромосомах». Приводятся данные DamID-seq, однако не хватает обобщений по распределению данного фактора, которые можно найти в основном тексте диссертации.

Неясно без чтения основного текста диссертации сколько реплик RNA-seq использовали для анализа данных, а также насколько условия получения данных библиотек совпадают с

условиями получения ранее опубликованных библиотек, которые используются для сравнения профилей экспрессии генов.

В работе говорится о том, что CP190 нарушает активность tMAC-зависимых генов дифференцировки, при этом сравниваются экспериментальные данные с опубликованными данными литературы, а никаких прямых доказательств не приведено и не обсуждается правомерность таких заключений.

В разделе, посвященном распределению границ H3K27me3 и изучаемых белков, возникает тоже несколько вопросов. Интересны ли другие модификации гистонов с точки зрения колокализации с сайтами связывания CP190? Данные по распределению границ SetDB1 выглядят логичными, так как это гистонметилтрансфераза. В основном тексте приводится пояснение про роль CP190 как инсулятора, в автореферате приведены данные о том, что CP190 устанавливает границы доменов H3K27me3 в эмбрионах. Однако в автореферате хотелось бы увидеть больше пояснений в данном разделе, в том числе о том, почему в эмбрионах есть корреляция распределения CP190 с границами доменов хроматина, а в клетках взрослого организма – нет.

Было бы интересно узнать о гомологах ТВР в семенниках, а также насколько белок CG9879 гомологичен ТВР и почему именно он выбран для исследования регуляции экспрессии мишеней tTAF? В части работы CG9879 фигурирует как гомолог ТВР, а в выводах как паралог. Насколько правомерно приписывать белку функции транскрипционного фактора на основании идентификации АТ-богатого сайта связывания?

Однако данные замечания не снижают ценности и высокой научной значимости результатов работы. Диссертация Романова Станислава Евгеньевича «Роль белков CP190 и CG9879 в регуляции генов дифференцировки сперматоцитов *Drosophila melanogaster*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика является оконченной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа Романова Станислава Евгеньевича полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, согласно «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Есюнина Дарья Михайловна

Кандидат биологических наук

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена
Российской академии наук

Старший научный сотрудник лаборатории иммунных систем прокариот

Вавилова ул., д. 34/5, Москва, 119334

8-499-135-60-89

es_dar@inbox.ru

ПОДПИСЬ *Есюнина ДМ*
ЗАВЕРЯЮ
Ученый секретарь ИБГ РАН *Вавилова Е.И.*

