

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
доктора биологических наук, профессора, члена-корреспондента РАН,
Полякова Александра Владимировича

на диссертацию в виде научного доклада Фишмана В.С.

"Трехмерная организация хроматина у животных и ее нарушения при хромосомных перестройках", представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 1.5.22. Клеточная биология, 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика.

Актуальность исследований

Диссертация посвящена изучению трехмерной организации хроматина у животных и ее нарушениям при хромосомных перестройках — одной из наиболее динамично развивающихся областей современной геномики. Понимание пространственной укладки ДНК в ядре клетки является критически важным для раскрытия механизмов эпигенетической регуляции, которая определяет дифференцировку клеток и функционирование генома в целом. Нарушения в организации хроматина связаны с рядом патологических состояний, включая онкологические и наследственные заболевания. Исследование трехмерной структуры генома у различных видов животных и в разных типах клеток не только расширяет фундаментальные знания, но и имеет прямое прикладное значение для развития методов диагностики и лечения генетических заболеваний.

Научная новизна

В работе использованы ранее не исследованные модели, применены современные методы анализа и разработаны оригинальные экспериментальные и вычислительные методы. В совокупности, эти факторы обуславливают научную новизну исследования. В частности, представлены следующие оригинальные результаты, обладающие высокой степенью новизны:

1. Проведен сравнительный анализ трехмерных контактов генома в фибробластах курицы и млекопитающих. Показано, что большинство локус-специфических особенностей укладки хроматина в фибробластах сохраняется неизменным на протяжении сотен миллионов лет. Впервые продемонстрировано радикальное изменение укладки топологически ассоциированных доменов (ТАДов) в процессе созревания эритроцитов курицы. Установлено отсутствие CTCF-опосредованных ТАДов и усиление компартментализации генома, что является эволюционно-консервативной особенностью эритроцитов (или их предшественников в случае млекопитающих) среди позвоночных.
2. Впервые получены данные о трехмерной укладке хроматина у пяти видов комаров рода *Anopheles* - важных с точки зрения эпидемиологии животных, многие из которых являются переносчиками малярии. Выявлено сближение центромерных и теломерных участков разных хромосом у комаров, что подтверждает их организацию в соответствии с моделью «Рабля». Обнаружены эволюционно-консервативные петлевые взаимодействия в X-хромосоме на расстоянии до 10 млн пар нуклеотидов, что имеет значение для понимания специфики укладки хроматина у насекомых.
3. Созданы инновационные биоинформационные инструменты и экспериментальные подходы, включая технологию Ехо-С для детекции хромосомных перестроек и нейронную сеть DeepCT для предсказания эпигенетических характеристик на основе нуклеотидной последовательности.

Значимость научных результатов

Результаты диссертации имеют существенное значение для развития геномики и медицинской генетики. На фундаментально-научном уровне, исследования

углубляют знания о механизмах эпигенетической регуляции и трехмерной организации генома, что важно для биологии развития и эволюционной биологии.

С точки зрения практического применения, разработанные методы имеют потенциал для внедрения в клиническую практику. Технология Exo-C позволяет эффективно выявлять хромосомные перестройки и генетические варианты, что может быть использовано в дополнение к рутинным методам клинической диагностики, особенно в случаях, когда у пациента уже диагностирована сбалансированная хромосомная перестройка (инверсия или транслокация) неопределенного клинического значения.

Наконец, с методической точки зрения имеют важное значение созданные биоинформационные инструменты, которые облегчают анализ больших объемов геномных данных (особенно данных Hi-C), способствуют автоматизации процессов анализа и могут быть использованы широким кругом исследователей.

Значимость работы также подтверждается большим количеством (более 50) публикаций, многие из которых представлены в ведущих научных журналах.

Структура работы

Диссертационная работа представлена в виде научного доклада, она имеет общий объем в 77 страниц, состоит из трех основных разделов (введение, основное содержание, заключение и выводы), а также двух дополнительных разделов (благодарности и список использованной литературы). Структура работы тщательно продумана и логично выстроена, что способствует последовательному изложению материала и облегчает понимание представленных исследований.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, описаны методология и методы. Во введении также представлен список публикаций по теме диссертации, который

включает 53 работы, из них 35 публикаций в журналах, индексируемых базами данных WOS и Scopus и относящихся к категории Q1 или Q2.

Основное содержание состоит из нескольких разделов, каждый из которых посвящен отдельному аспекту исследования, включая сравнительный анализ укладки хроматина, разработку методов анализа данных и их применение.

В заключении и выводах подведены итоги работы, сформулированы основные выводы, подтверждающие достижение поставленных целей.

Структура работы отражает глубокий и всесторонний подход автора к исследованию, позволяя читателю проследить ход научного поиска и оценить значимость полученных результатов. Диссертация достаточно хорошо иллюстрирована, содержит 17 рисунков, подавляющее большинство из которых представлено коллажами с несколькими панелями, такие рисунки высоко информативны и освещают целый раздел или подраздел в работе.

Замечания и вопросы

Техническое замечание по работе одно. В тексте на стр. 64 доклада указано общее число образцов $23+6+27=56$. А в подписи к рис. 16 указано 66 образцов, причем на самом рисунке отражены 76 образцов.

Следует отметить небольшое число опечаток и орфографических ошибок, которые, впрочем, незначительно влияют на восприятие текста и не мешают усваивать содержание работы.

Принципиальных замечаний по тексту работы нет. Однако есть ряд вопросов.

1. В ходе выполнения диссертации разработан и опробован целый ряд биоинформационических программ. Имеют ли эти программы регистрационные удостоверения, стали ли они общедоступными, пользуются ли ими в мире и ссылаются ли на них зарубежные коллеги?

2. В организации X-хромосомы комара обнаружены крупные петлевые структуры в миллионы п.о. Могут ли эти структуры участвовать в укорочении половых хромосом в процессе эволюции у гетерохромосомных видов?
3. На стр. 59 доклада указано, что при применении технологии Exo-C «при глубине секвенирования ненамного большей, чем при стандартном экзомном секвенировании, мы получим информацию как о структурных хромосомных перестройках, так и о точковых мутациях» Вопрос: на сколько больше глубина секвенирования и как это отражается на цене исследования?
4. Стр. 65 рукописи «Среди пациентов с неустановленной молекулярной причиной патологии по результатам Exo-C-эксперимента удалось найти патогенные или вероятно патогенные однонуклеотидные варианты в экзомах трех пациентов.» выше указано, что для этого исследования был взят материал нескольких пациентов. А скольких реально? Это важный вопрос, ответ на него дает оценку мощности подхода Exo-C для анализа сложных случаев, где другие методы не дали результата.
5. В приведенном обширном примере пациента с транслокацией t(5;10) методом Exo-C была выявлена небольшая инверсия участка хромосомы 10, не зарегистрированная цитогенетически. Она и оказалась причиной заболевания у пациента. Однако, встает вопрос: а не проще ли для этого пациента было сделать геномное секвенирование? В данном случае применение метода Exo-C обусловлено только демонстрацией его возможностей (что в рамках работы несомненно важно и значимо) или имеет какие-либо преимущества перед геномным секвенированием?

Заключение

Диссертация В.С. Фишмана “Трехмерная организация хроматина у животных и ее нарушения при хромосомных перестройках” выполнена на высоком

методическом уровне, по своему содержанию, предмету и методам исследования соответствует специальностям 1.5.22. Клеточная биология и 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика, является актуальным, законченным научным трудом. Диссертация полностью соответствует п. 9-14 "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденному постановлением Правительством РФ от 24.09.2013 №842 (в редакции № 62 от 25.01.2024), а ее автор - Вениамин Семенович Фишман - заслуживает присуждения ему ученой степени доктора биологических наук по специальностям 1.5.22. Клеточная биология и 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией ДНК-диагностики
Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова»,
доктор биологических наук,
член-корреспондент РАН

Поляков Александр Владимирович

Подпись члена-корреспондента РАН, доктора биологических наук Полякова
Александра Владимировича заверяю.

Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Медико-генетический
научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
кандидат медицинских наук



Воронина Екатерина Сергеевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-
генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Адрес: 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Телефон: +7(499)612-86-07

e-mail: mgnc@med-gen.ru

Адрес сайта: med-gen.ru

«08 » октябрь 2024 г.