

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
**ИНСТИТУТ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КЛЕТОЧНОЙ
БИОЛОГИИ**
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИМКБ СО РАН)

пр. Академика Лаврентьева, д. 8/2, Новосибирск, 630090
телефон (383) 3639042, факс (383) 3639078
e-mail: info@mcb.nsc.ru

<http://www.mcb.nsc.ru>
ОКПО 30781167, ОГРН 1115476157070,
ИНН / КПП 5408291757 / 540801001

№ 15318 –

На № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Института молекулярной и кле-
клеточной биологии СО РАН,

д.б.н. Демаков С.А.

06 июня 2018 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Остромышенского Дмитрия Игоревича «Состав хромоцентров мыши *in silico* и их основной компонент, тандемные повторы, у мышевидных грызунов» представленной к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 — молекулярная биология

Основные научные результаты и их актуальность для науки и практики

Конститутивный гетерохроматин является важной составляющей частью генома. Его точный состав и функции остаются по-большой части неизвестными. Даже для секвенированных геномов вопрос о составе гетерохроматиновых последовательностей остается открытым. Отчасти это связано с наличием большого числа тандемно повторяющихся последовательностей в этой части генома. Настоящая работа посвящена целенаправленному изучению состава конститутивного гетерохроматина и его основного компонента — тандемных повторов. Фундаментальное значение работы трудно переоценить — впервые проведено секвенирование тотального гетерохроматина клет-

ки, определены основные последовательности входящие в состав гетерохроматина и особенности их строения.

В работе применен оригинальный подход — секвенирование ДНК, полученной из биохимически выделенных хромоцентров, которые являются местом локализации конститутивного гетерохроматина в интерфазном ядре. Автором проведен анализ ридов секвенирования ДНК хромоцентров методами биоинформатики. Определено содержание различных классов повторяющихся последовательностей в конститутивном гетерохроматине. Проведен анализ особенностей строения LINE и ERV, расположенных в этой части генома. Данные биоинформатики подтверждены методами молекулярной биологии. Детально исследован главный компонент конститутивного гетерохроматина — тандемные повторы. В работе с помощью FISH и последующего кариотипирования локализованы на хромосомах 15 семейств тандемных повторов. Методами биоинформатики проведен сравнительный анализ тандемных повторов у разных видов грызунов.

Общая оценка работы

Диссертация написана хорошим языком по стандартной схеме, представлена на 114 страницах машинописного текста. Список литературы состоит из 159 ссылок. Большинство цитированных материалов опубликованы в последние годы в ведущих научных журналах по данной тематике.

В первой главе, изложенной на 15 страницах, приведен **обзор литературы** посвященный общему описанию конститутивного гетерохроматина и хромоцентров, краткому описанию основных классов диспергированных повторов: эндогенных ретровирусов (ERV, класс LTR ретропозоны) и non-LTR ретропозонам (LINE и SINE). Наибольшее внимание в обзоре литературы посвящено описанию тандемных повторов, их транскрипции, описанию тандемных повторов у грызунов и вопросов их эволюции. Несколько пере-

груженной выглядит часть про транскрипцию tandemных повторов, которая в дальнейшей работе практически не обсуждается.

Во второй главе на 10 страницах приведено описание методов, использованных в работе. **Методы**, использованные в работе, адекватны поставленным задачам, они разнообразны и включают как анализ методами биоинформатики, так и методами молекулярной биологии, включая цитологический подход. В диссертации методы изложены в необходимом и достаточном объеме.

Третья глава описывает **результаты** работы. Глава изложена на 35 страницах и содержит 16 рисунков и 10 таблиц. В главе подробно с хорошим иллюстративным материалом изложены основные результаты проведенной работы.

Четвертая глава посвящена **обсуждению полученных результатов**, которые изложены на 14 страницах. В обсуждении достаточно полно описано сравнение полученных результатов с литературными данными, обоснованы выводы работы, а также научная значимость и новизна работы.

Выводы работы хорошо сформулированы и подтверждены адекватно иллюстрированным экспериментальным материалом.

Автореферат написан хорошо и полностью соответствует диссертационной работе.

Научно-практическая значимость

Проведенное исследование вносит заметный вклад в понимание состава конститутивного гетерохроматина. Впервые показано обогащение гетерохроматина фрагментом LINE, а также относительное обогащение эндогенным ретровирусом IAP. Показано наличие значительного количества LTR, которые могут выступать промотарами для транскрипции tandemных повторов. Исследованные в работе tandemные повторы могут использоваться как маркеры тех или иных хромосом при проведении FISH, без процедуры каритипирования у лабораторного вида *Mus musculus* (домовая мышь). Найденные гетерохроматиновые последовательности могут помочь при анализе экс-

периментов, проведенных по методам фиксации конформации хромосом (3С, 4С и т. д.).

Полученные результаты могут быть использованы при чтении курсов лекций в ВУЗах, например, в Московском, Новосибирском, Санкт-Петербургском и других университетах.

Общие замечания

Обращает внимания некоторая небрежность при оформлении рисунков и подписей к ним:

- На рис. 6 и 13 отдельные части обозначены латинскими буквами (А, В, С и т. д.), а на рисунке 16 — русскими (А, Б, В)
- По разному обозначен масштаб в подписях к рисункам. Например, в подписи к рисункам 6, 9, 10 и др. - «Размерная линейка 5 мкм», в подписи к рисункам 13, 16, 17 - «Масштабная линейка - 10 μm », к рисунку 14 «Размерная линейка 5 μm ».

Качество метафазных пластинок сирийского хомячка на рисунке 17 крайне низкое и с трудом позволяет прочесть картину. Эта часть работы относится к неопубликованному материалу и хочется пожелать автору улучшить качество изображений для публикации.

В разделе 3.7.2. Анализ ТП *in situ*, посвященном картированию тандемных повторов, обнаруженных методами биоинформатики, на метафазных хромосомах, номера хромосом определяли только по инвертированным изображениям окрашенных DAPI хромосом. Известно, что унифицированный кариотип мыши непрост для определения отдельных хромосом. Необходимо дополнить определение хромосом с помощью хромосомных красок или хромосом-специфичных ВАСов, коммерчески доступным.

Рецензенту кажется излишней включенная в список своих статей статья «Транспозоны морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*: *in silico* versus *in vitro*», о материале которой нет ни слова в диссертации. Более того, статья еще находится в печати.

Высказанные замечания касаются в основном редактирования и улучшений, но не умаляют научных достоинств работы Д.И.Остромышенского.

Заключение

Диссертация Остромышенского Дмитрия Игоревича «Состав хромосомных центров мышцы *in silico* и их основной компонент, тандемные повторы, у мышевидных грызунов», представленная на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 — молекулярная биология, обладает ярко выраженной научной новизной. Выводы обоснованы полученными данными. Большинство результатов опубликованы в научных журналах и обсуждены на международных конференциях. Представленная работа по научной новизне, актуальности, теоретической значимости и другим параметрам полностью соответствует пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ, а ее автор, Остромышенский Дмитрий Игоревич, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 — молекулярная биология.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании Объединенного семинара Отдела разнообразия и эволюции геномов Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН, протокол № 12 05.06.2018.

Отзыв составлен Зав. Отдела разнообразия и эволюции геномов
Руководителем научного направления
Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Д.б.н., проф., А. С. Графодатским

05.06.2018 г.

