



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН

ул. Вавилова д. 26, Москва, 119334
Тел.: (499) 135-33-22. Факс (499) 135-80-12. E-mail: info@idbras.ru
ОКПО: 02699062 ОГРН 1027700450800 ИНН/КПП 7736044850/773601001
[www://idbras.ru](http://www.idbras.ru)

23.11.2020 № 12506/01-307/01
На № 04.2-24/26 от 13.10.2020

«УТВЕРЖДАЮ»

врио Директора

Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биологии
развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)
д. б. н., чл.-корр. РАН



Васильев А.В.

«23» ноября 2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу

РОМАНОВА Дмитрия Евгеньевича

**«Анализ связи между структурно-функциональной организацией генома в
окрестностях регулирующих рост генов и морфо-физиологическими
характеристиками млекопитающих»,**

**представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.07 – Генетика.**

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационное исследование Романова Д. Е. посвящено изучению вопроса о возможной связи между размером млекопитающих, скоростью роста в онтогенезе и структурными особенностями некодирующей части генома, проблеме, давно привлекающей внимание биологов. В данный период в генетике количественных признаков наметился перелом, когда наблюдается переход от традиционной модели контроля количественных признаков совокупностью минорных и мажорных генов к модели, которая включает в себя и разнообразные эффекты некодирующих регуляторных последовательностей ДНК. Предположение о существовании положительной корреляции между морфофизиологическими характеристиками и структурно-функциональной организацией генома в окрестностях регулирующих рост генов представляется логичным, поскольку для построения в ходе онтогенеза более сложного организма, казалось бы, требуется более объемная «программа развития». Имеются указания на наличие положительной связи между размером ушкальных геномных последовательностей и уровнем организации; кроме того, отмечается общий рост генома в наиболее «прогрессивной» эволюционной линии, ведущей от прокари-

от к млекопитающим (в этой линии наиболее четко выражена тенденция к морфофизиологическому прогрессу).

Известно, что скорость соматического роста млекопитающих высока в ранние этапы развития организма, но с возрастом постепенно снижается, тем самым задавая конечный размер тела взрослого животного.

В системную регуляцию роста млекопитающих вовлечены гены соматотропной оси, тем не менее, механизмы, модулирующие системную регуляцию роста млекопитающих, остаются открытым вопросом. Показано, что снижение скорости роста млекопитающих, заключающееся в уменьшении уровня пролиферации клеток в разных тканях, контролируется в основном локальными механизмами и наиболее тесно связано с уменьшением экспрессии генов, относящихся к семейству транскрипционных факторов и белков сигнальных путей: *Ezh2*, *Gpc3*, *Mdk*, *Mest*, *Mycn*, *Peg3*, *Plagl1*, *Smo*, *Igf2* и *E2f3*. На сегодняшний день остаются не известны механизмы, контролирующее скоординированное уменьшение экспрессии этих генов, и факторы, которые лежат в основе эволюционного модулирования соответствующей генетической программы.

Таким образом, диссертационное исследование Романова Д.Е., посвященное поиску связи между структурно-функциональной организацией генома в окрестностях регулирующих рост генов и морфофизиологическими характеристиками млекопитающих является актуальным.

Новизна полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые проведен широкомасштабный сравнительный анализ геномов млекопитающих вокруг генов, ответственных за формирование размера животных, найдены определенные особенности в организации геномов животных, которые коррелируют с ростом, весом и продолжительностью жизни животного.

Разработана оригинальная модификация компьютерного метода поиска консервативных элементов генома на основе построения и анализа точечной матрицы гомологий, позволяющая проводить множественное сравнение геномных последовательностей. С помощью этого метода выявлены консервативные участки генома в окрестностях регулирующих рост генов у различных видов млекопитающих.

Впервые выявлена связь между геномным расстоянием между консервативными элементами в окрестностях регулирующих рост генов и такими морфофизиологическими характеристиками млекопитающих, как масса и длина тела взрослого животного, период полового созревания и продолжительность жизни.

Впервые показано, что геномное расстояние между регуляторными элементами генома может выступать фактором, эволюционно модулирующим экспрессию генов регуляции роста и в конечном итоге определяющим фенотипические различия между видами млекопитающих. Предложены модели регуляции этих генов, объясняющие фенотипические различия между видами млекопитающих.

Впервые выявлена взаимосвязь между морфофизиологическими характеристиками млекопитающих и положением на хромосоме регулирующих рост генов; указаны возможные механизмы регуляции некоторых из этих генов, объясняющие фенотипические различия между видами млекопитающих.

Значимость полученных результатов для развития соответствующей отрасли науки

Работа является шагом на пути к пониманию генетического контроля количественных признаков, а именно, как связаны структурно-функциональная организация генома и его фенотипические проявления, в частности, масса и размер тела млекопитающих, период полового созревания и продолжительность жизни.

В работе показано, что геномное расстояние между некоторыми консервативными элементами генома в окрестностях регулирующих рост генов может выступать одним из основных факторов, определяющих указанные морфофизиологические характеристики.

Исследован вопрос, как положение этих генов на хромосомах, в частности, расстояние до ближайшей теломеры, может также влиять на эти морфофизиологические характеристики у разных млекопитающих.

Предложены молекулярные механизмы регуляции экспрессии этих генов, причем предполагается, что геномное расстояние является определяющим фактором эволюционного модулирования экспрессии; построены модели регуляции этих генов в онтогенезе.

Результаты, которые получены в данной работе, могут быть востребованы в исследованиях генетических нарушений, вызывающих задержку роста или преждевременное старение. Знание механизмов роста и развития организма может найти применение в регенеративной медицине.

С практической точки зрения возможность регуляции роста и размеров животных может быть востребована в сельском хозяйстве с целью повышения морфофизиологических показателей основных сельскохозяйственных животных.

Предлагаемый в работе метод исследования может быть применен в качестве подхода к решению похожих фундаментальных проблем связи фенотипа с генотипом.

Объем и структура диссертации

Диссертация построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка цитируемой литературы (145 источников). Работа представлена на 123 страницах и содержит 11 рисунков и 36 таблиц.

Во введении раскрыты актуальность проблемы, ее новизна и практическая значимость работы. Обзор литературы выполнен с привлечением достаточного количества источников, большинство из которых зарубежные. В двух разделах «Обзора ли-

тературы» представлены данные по механизмам генетического контроля регуляции соматического роста млекопитающих, роли репрессии последовательностей теломеры экспрессионной активности генов, влиянию физического расстояния между промоторами генов и цис-регуляторными последовательностями на экспрессионную активность, а так же по составу и методам выявления цис-регуляторных последовательностей. Описание методов и материалов исследования подробны, наглядны и хорошо систематизированы. Автор разработал собственный набор скриптов для анализа баз данных NCBI, выявления консервативных участков в межгенных спейсерах разных видов млекопитающих и оценки обогащения их известными регуляторными элементами. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, так как статистическое исследование выполнено на достаточном объеме выборки, с использованием строгих критериев отсека ложноположительных результатов, связанных с использованием множественных сравнений. В главе «Результаты» Дмитрий Евгеньевич в соответствии с очередностью поставленных задач представляет выявленные консервативные элементы генома в окрестностях регулирующих рост генов, корреляцию между распределением дистанций от них до генов-мишеней, их обогащенность известными регуляторными последовательностями из баз данных по сайтам связывания транскрипционных факторов и ядерных белков, результаты «обратного» анализа обогащенности категорий генной онтологии среди генов, расположенных в окрестностях консервативных элементов. Автор показал функциональную значимость шести наиболее скоррелированных консервативных последовательностей с морфо-физиологическими показателями, связанную с регуляцией экспрессионной активностью, и отсутствие их перекрывания известными элементами генома млекопитающих, проявляющих регуляторную активность. Анализ распределения этих последовательностей в геноме человека, позволил сделать вывод об их участии в регуляции процессов клеточного деления, роста и развития. Подтверждено также обогащение этих последовательностей такими категориями «биологических процессов», как регуляция транскрипции, регуляция цитоскелета и процессов морфогенеза, регуляция адаптивного иммунного ответа. Строгого подтверждения участия консервативных элементов в регуляции эпигенетических процессов, связанных с метилированием CpG-сайтов и, соответственно, эпигенетических часов Хорвата, получить не удалось. Автором также выявлена корреляция между положением на хромосоме регулирующих рост генов и морфо-физиологическими характеристиками млекопитающих. Интерес вызывает глава «Обсуждение результатов». Автор интерпретирует полученные результаты с позиции нескольких эволюционных моделей: (1) тонкое модулирование экспрессии регулирующих рост генов в ходе эволюции видов под влиянием изменения геномных расстояний между регулируемыми элементами и их мишенями; (2) возрастного затухания программы роста, связанного с метилированием регуляторных последовательностей и элементов нуклеосом, расположенных поблизости; (3) дистантной регуляции экспрессии генов-мишеней, связанной с расстоянием до гетерохроматиновых блоков, в том числе с теломерами, и с метилированием ДНК; (4) обобщенной модели взаимодействия и модификации регуляторных кон-

сервативных последовательностей и целевых промоторов, включающей пороговые значения метилирования регуляторных сайтов и промотора в зависимости от расстояния до гетерохроматина, изменения степени их метилирования в течении жизни и пропорциональная степени метилирования экспрессионная активность генов. В итоге Автор делает вывод о связи между морфо-физиологическими характеристиками млекопитающих и положением на хромосоме регулирующих рост генов. Часть этих заключений довольно смелая, и не имеет строгого подтверждения в настоящем исследовании, в первую очередь связанная с регуляцией процессов метилирования локусов. Тем не менее, автор частично подтверждает свои рассуждения литературными данными, и обсуждаемые модели имеют право на существование, если нет данных, опровергающих предлагаемые механизмы регуляции.

Личный вклад автора

Автор лично принимал участие в выполнении всех подготовительных и основных этапов работы, включая планирование и разработку идеи, определение цели и задач диссертационного исследования, осуществлял выбор методов и материала для проведения научного исследования, обобщение сведений литературы по изучаемой проблеме. Автором самостоятельно проведена статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов, подведены итоги, сформулированы заключение и выводы. Результаты диссертационной работы доложены на конференциях и опубликованы в научных журналах. Автором самостоятельно подготовлена и оформлена рукопись диссертации и автореферат.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 17 печатных работ: 2 статьи Scopus и сборник тезисов, учитываемый в Scopus, 2 свидетельства о регистрации программ для ЭВМ, 12 тезисов в сборниках трудов конференций.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные результаты о связи геномного расстояния между регуляторными элементами генов, контролирующими рост и развитие млекопитающих, могут быть использованы для планирования и проведения экспериментального исследования на модельных животных.

Поставленные в работе цели были достигнуты. Представленные в диссертационной работе результаты биоинформатического анализа достаточно убедительны.

Существенных замечаний к диссертационной работе не имеется. Рекомендательный характер носит замечание к шестому выводу. Понятно, что такого рода исследования значительно ограничены имеющимися данными по последовательностям полных геномов. Тем не менее, более полную картину регуляции экспрессии генов даст исследование различных мерных признаков у близкородственных видов на уровне семейства и даже рода, которое позволит отличить адаптивно значимую регуляцию экспрессии генов от регуляции, определяемой близостью к хроматину (Funikov S.Yu., Rezvykh A.P., Kulikova D.A., Zelentsova E.S., Protsenko L.A.,

Chuvakova L.N., Tyukmaeva V.I., Arkhipova I.R., Evgen'ev M.B. Adaptation of gene loci to heterochromatin in the course of Drosophila evolution is associated with insulator proteins. Sci Rep 10, 11893 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68879-2>). Количество орфографических ошибок, опечаток и оплошностей в стиле изложения настолько мало, что они не заслуживают отдельного рассмотрения. Необходимо отметить, что в автореферате диссертации ошибки практически отсутствуют.

Заключение

Таким образом, диссертация Романова Дмитрия Евгеньевича «Анализ связи между структурно-функциональной организацией генома в окрестностях регулирующих рост генов и морфофизиологическими характеристиками млекопитающих» является научно-квалификационной работой, в которой решена научная задача, имеющая существенное значение для генетики, что соответствует требованиям ВАК РФ, изложенным в п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), а её автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 Генетика.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН «10» ноября 2020 г., протокол заседания № 8.

Доктор биологических наук Куликов Алексей Михайлович

Сведения о составителе отзыва:

Куликов А.М., доктор биологических наук по специальностям 03.02.07 – Генетика, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией эволюционной генетики развития Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН.

Почтовый адрес: 119334, Москва, ул. Вавилова, 26.

Тел: 8 (499) 135-70-09,

Интернет-сайт: www.idbras.ru

e-mail: amkulikov@gmail.com

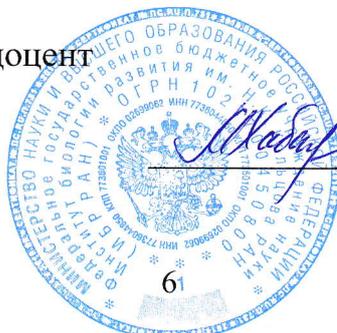
Подпись Куликова А.М. удостоверяю

Ученый секретарь ИБР РАН,

кандидат биологических наук, доцент

Хабарова Марина Юрьевна

Дата: 23 ноября 2020 г.



/ Хабарова М.Ю./