

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Жариковой Анастасии Александровны

на тему:

«Биоинформатический анализ РНК-хроматиновых взаимодействий»

по специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика»

Актуальность темы

Диссертационная работа Анастасии Александровны Жариковой посвящена разработке методов анализа данных РНК-хроматинового взаимодействия в масштабе полных геномов и транскриптомов. В настоящий момент существует ряд экспериментальных методов определения таких взаимодействий, но не существует стандартизованного метода их обработки, который позволял бы корректировать такие проблемы протоколов, как большое количество контактов внутри гена, с которого транскрибируется конкретная РНК, случайные сшивки, зависимость количества контактов от общего уровня экспрессии РНК и других. Появление полногеномных протоколов, с помощью которых можно было бы достоверно определять локусы взаимодействия с хроматином всех РНК, ассоциированных с хроматином, радикальным образом продвинуло бы вперед исследования в области функций некодирующих РНК и их роли в регуляции хроматина.

Предлагаемый в работе подход в основном представлен для анализа данных оригинального протокола Red-C соавтором которого является соискатель, однако показано, что можно успешно анализировать данные других аналогичных протоколов. Ценность данных подобного типа заключается в том, что можно устанавливать локусы взаимодействия с хроматином любых хроматин-ассоциированных РНК, при этом нет необходимости добывать какую бы то ни было информацию об этих РНК (последовательность, структура, уровень экспрессии и пр.). Такие экспериментальные протоколы в тандеме с биоинформатическими подходами к обработке данных значительно продвинут исследователей в понимании биологии некодирующих РНК.

Данные исследования в перспективе позволят использовать некодирующие РНК как агенты, направляющие различные активные белки и комплексы к определенным районам хроматина, что может быть использовано для таргетированного воздействия на хроматин для задач генной инженерии и медицины. Таким образом, исследованная в работе тематика является актуальной как для понимания теоретических аспектов роли РНК для регуляции хроматина, так и для прикладных задач.

Степень обоснованности научных положений

В работе применялись как разработанные ранее, так и новые, разработанные автором методы анализа. Для оценки воспроизводимости и точности измерений выполнена адекватная статистическая обработка данных. Все утверждения в диссертации являются точными, они тщательно и полностью обоснованы с использованием строгих и корректных рассуждений.

Научная новизна диссертационного исследования

В ходе проведения диссертационного исследования был получен ряд новых результатов. Для аннотации РНК-частей была разработана процедура голосования, разрешающая конфликты неоднозначной ассоциации с генами аннотации. В работе предлагают несколько подходов к снижению уровня неспецифических шумов в данных на уровне биоинформатического анализа: нормировка на фон и на уровень экспрессии РНК. На основании дополнительной информации об уровне экспрессии разработана и рассчитана метрика хроматинового потенциала. Предложен подход к изучению характера взаимодействия РНК с хроматином. Проведена сборка гипотетически новых хроматин-ассоциированные РНК. Полученные в диссертации результаты являются новыми и достоверными, представляют несомненный научный интерес.

Теоретическая и практическая значимость, рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Все представленные данные получены впервые, опубликованы в научных журналах и представлены на отечественных и международных конференциях. Безусловно, разработанный протокол обработки данных РНК-

хроматиновых взаимодействий и построенной на его основе классификации типов взаимодействующих РНК имеют важное фундаментальное значение и могут быть применены для решения широкого круга задач молекулярной биологии, а в перспективе и в прикладных работах.

Личный вклад автора в исследование

Все результаты, представленные в диссертации, получены лично соискателем или при ее непосредственном участии, за исключением ряда работ, авторство которых указано в явном виде. Хочется отметить, что подобного рода междисциплинарные работы практически невозможно сделать без участия коллег, что нисколько не снижает личной роли автора.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа Анастасии Жариковой изложена на 128 страницах, содержит 58 рисунков и 9 таблиц, включает все необходимые разделы: «Список сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список использованной литературы» (процитировано 104 внешних источника).

Общие замечания

Как было сказано выше, протоколы экспериментального опопределения контактов РНК-хроматин появились в последние несколько лет. Устоявшихся протоколов для анализа данных такого типа пока не существует совсем. В подобном анализе всегда принимается много решений, которые сложно валидировать. Это может вызывать споры среди специалистов. Ситуацию усугубляет то, что сами протоколы, видимо, еще недостаточно стабильны. Из анализа видно, что даже при одинаковой обработке методы показывают разные результаты. В целом, шаги по обработке данных выглядят разумно. Однако вызывает сомнение решение объединить реплики. Понятно, что этот подход увеличивает покрытие и упрощает сравнение разных методов, однако не позволяет оценить воспроизводимость каждого из методов.

Также из рассмотрения исключены межхромосомные контакты. С одной стороны, такие контакты могут быть случайными сшивками, однако, если они воспроизводятся в разных репликах – это могут быть как раз регуляторные РНК. С учетом хромосомных территорий таких РНК вряд ли много, но их регуляторный потенциал может быть значительным. Принятое ранее решение объединить реплики не позволяет отличить случайные сшивки от регуляторных межхромосомных контактов. В работе выявлен также ряд других интересных классов РНК, в частности, собраны новые РНК из наиболее часто встречающихся контактов. Было бы интересно оценить их воспроизводимость в репликах, хотя бы уже пост фактум.

На основании разработанной метрики хроматинового потенциала выявлено почти 2000 хроматин-ассоциированные РНК с высоким потенциалом. Однако в работе практически не приведено сравнения результатов с литературными данными об известных РНК, регулирующих хроматин. Встречаются лишь упоминания XIST и TESC. Хотелось бы видеть более наглядно, насколько чувствительность предлагаемой меры подтверждается экспериментально.

К небольшим замечаниям относится отсутствие названия последней статьи в списке литературы.

Поднятые вопросы не умаляют качества проделанной работы. Хочется отметить, что работа проделана очень большая, разработано множество методов и подходов для анализа нового типа данных. Получено множество результатов, важных как для молекулярной, так и имеющих потенциал использования в прикладных исследованиях.

Заключение

Диссертация А.А. Жариковой отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Жарикова Анастасия Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика».

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук,
руководитель группы регуляторной транскриптомики и эпигеномики,
старший научный сотрудник, Федеральное государственное учреждение
«Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук»

Медведева Юлия Анатольевна

«09» июня 2022

Контактные данные:

тел.: +7 (499) 135-73-19, e-mail: medvedeva@biengi.ac.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.01.03 «Молекулярная биология»

Адрес места работы:

119071 Российская Федерация, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33,
строение 2, Федеральное государственное учреждение «Федеральный
исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»

Тел.: +7 (499) 135-73-19; e-mail: office@biengi.ac.ru

Подпись сотрудника Федерального государственного учреждения «Федеральный
исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской
академии наук» Ю.А. Медведевой удостоверяю:

*Зам. Ученого секретаря
РФФИ Биотехнологии
и А. И. ? Свешников*