

**ФАНО России**  
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ**  
**ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ГЕНА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**  
**(ИБГ РАН)**

119334 г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5  
Тел.: 8-499-135-60-89, 8-499-135-98-84 Факс: 8-499-135-41-05 E-mail: info@genebiology.ru

21 апреля 2017 г. № 1238-122

на № 209-651.4-279 от 05.04.2017

**"УТВЕРЖДАЮ"**

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института  
биологии гена Российской академии наук  
академик Георгиев Павел Георгиевич



21 апреля 2017 г.

**ОТЗЫВ**

**ведущей организации на диссертационную работу Смирнова Николая Андреевича "Исследование активности потенциальных инсуляторных и энхансерных элементов генома человека", представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология.**

Диссертационная работа Смирнова Н.А. посвящена актуальной проблеме функциональной геномики – исследованию активности цис-регуляторных элементов, в частности энхансеров, инсуляторов и промоторов в геноме человека. Выполненная работа является частью масштабного проекта, проводимого в лаборатории структуры и функций генов человека ИБХ РАН, задачей которого является выяснение положения и роли регуляторных элементов генома, относящихся к различным классам функциональных последовательностей, локализующихся в полигенном локусе хромосомы 19 человека длиной 1 млн. п.н.

Диссертационная работа изложена на 119 страницах машинописного текста содержит 22 рисунка, 9 таблиц, построена по традиционному плану и состоит из введения, включающего постановку целей и задач работы, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения полученных результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 275 ссылок.

Обзор литературы состоит из двух основных разделов. В первой части обзора литературы содержится обобщающая информация об энхансер-блокирующих элементах, их свойствах, механизмах действия и регуляции их активности. В данном разделе приведено обсуждение многофункционального фактора транскрипции CTCF, отвечающего за энхансер-блокирующую активность инсуляторов позвоночных и описан наиболее изученный CTCF-связывающий HS4-инсулятор из бета-глобинового локуса, использованный в работе в качестве модельного объекта. Обсуждаются особенности распределения сайтов связывания CTCF в геноме. Второй раздел посвящен эукариотическим энхансерам, их основным характеристикам и свойствам; описаны методы идентификации энхансеров и основные модели механизмов их действия. Используемые в обзоре данные взяты из современных литературных источников и хорошо иллюстрированы. В целом обзор достаточно информативен, хорошо структурирован. К недостаткам литературного обзора можно отнести общий краткий стиль изложения, стилистические погрешности и некоторые неточности формулировок. Стоит также отметить что литературный обзор не включает в себя описание двунаправленных промоторов, изучению которых уделена одна из глав диссертации.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает ход экспериментов, выполненных соискателем. Описание экспериментов достаточно полно и подробно для их воспроизведения.

Глава результаты и их обсуждение состоит из четырех частей. В первой части с использованием методов сравнительной и функциональной геномики

проведено детальное исследование энхансерного элемента расположенного во втором интроне гена *U2AF1L4*, расположенного в полигенном локусе хромосомы 19, выявлен фрагмент, отвечающий за его энхансерную активность. С помощью метода сдвига электрофоретической подвижности подтверждена функциональная роль консервативных областей.

Во второй части исследован двунаправленный промотор пары генов *PSENFEN* и *U2AF1L4*, расположенный в непосредственной близости от исследованного в первой части энхансера. Определены консервативные области и показана их функциональная роль в работе промотора. Доказано, что исследуемый промотор является истинным двунаправленным промотором. К недостаткам стоит отнести то, что взаимосвязь промотора и энхансера никак не изучена, несмотря на то что одной из целей исследования было изучение пространственного сближения указанных элементов. На наш взгляд данный вопрос нуждается в более детальной проработке.

Третья часть посвящена анализу энхансерной и энхансер-блокирующей активности последовательностей в исследуемом локусе. В данном разделе с использованием системы двойной люциферазной детекции проведен анализ последовательностей, отобранных на основании особенностей структуры хроматина и характера распределения сайтов связывания транскрипционных факторов. Также автором проведен анализ энхансер-блокирующей активности ранее идентифицированных в лаборатории последовательностей потенциальных инсуляторов, идентифицированных с использованием системы позитивно-негативной селекции. Среди энхансерных и энхансер-блокирующих последовательностей выявлено несколько последовательностей с интересными особенностями, которые могут быть использованы для дальнейшего изучения.

Четвертая часть посвящена изучению эффекта активации промотора энхансером в *транс*-положении в системе двойной люциферазной детекции. Автором показано, что активность энхансера в *транс*-положении зависит от

промотора и типа клеток и, как было показано с помощью 3С анализа, включает в себя физическую сближенность промотора с энхансером. Исследованный эффект интересен не только с теоретической точки зрения, но и с практической, например, при интерпретации результатов, получаемых в подобных системах.

Диссертация заканчивается выводами, отражающими то новое, что автор показал в своей работе. Выводы сжато, кратко и убедительно демонстрируют основные достижения автора. Автор, используя современные подходы и методы молекулярной биологии, получил новые достоверные результаты. Диссертационная работа апробирована в ряде научных конференций, а ее материал достаточно полно представлен в четырех статьях, опубликованных в рецензируемых журналах.

Результаты работы достаточно полно отражены в автореферате и в публикациях. Принципиальных замечаний по результатам работы нет, а отмеченные недостатки никак не снижают высокой оценки представленной работы.

Результаты диссертационной работы, полученные автором, могут быть использованы в научно-исследовательской работе, проводимой в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии гена Российской академии наук, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте молекулярной генетики Российской академии наук, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта Российской академии наук. Методические подходы и материалы диссертации могут быть использованы при обучении аспирантов и студентов-дипломников в области молекулярной биологии.

Высокий методический уровень работы, ее теоретическая значимость позволяют сделать заключение о том, что диссертация удовлетворяет

требованиям ВАК, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748), а ее автор, Смирнов Николай Андреевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «молекулярная биология» (03.01.03).

Результаты диссертационной работы Смирнова Н.А. заслушаны, отзыв обсужден и утвержден на коллоквиуме лаборатории структурно-функциональной организации хромосом ИБГ РАН 19 апреля 2017.

главный научный сотрудник

Лаборатории структурно-функциональной

организации хромосом Федерального государственного

бюджетного учреждения науки Института биологии гена

Российской академии наук

профессор, доктор биологических наук Яровая Ольга Владимировна

тел.: 8-(499)-135-97-87

e-mail: iarovaia@inbox.ru

119334 Москва, ул. Вавилова, 34/5

21.04.2017

