

ОТЗЫВ

официального оппонента Андрея Александровича Миронова

на диссертационную работу Леонида Игоревича Назарова

«СТАТИСТИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ СТРУКТУРЫ

ХРОМАТИНА»

Молекулярная биология с момента своего становления после открытия двойной спирали ДНК постоянно имеет связь с физикой полимеров. Здесь можно упомянуть теорию плавления ДНК, работы по сворачиванию белков и односторонних полинуклеотидных цепочек РНК и многие другие. Эти работы, как правило, были связаны с относительно небольшими молекулами — от сотен до десятков тысяч мономерных единиц. Однако в эукариотических клетках ДНК имеет колоссальную (макроскопическую) длину. Способ ее укладки в клеточное ядро представляет определенную загадку. При этом надо понимать, что живая клетка может находиться в разных состояниях. Интерфаза — это спокойное состояние клетки, когда она не собирается делиться. Фаза клеточного деления имеет несколько стадий, на одной из которых происходит компактизация ДНК в весьма плотную структуру. Во всех состояниях ДНК имеет иерархическую структуру компактизации: в интерфазе достоверно показано два уровня компактизации — нуклеосомный уровень, когда ДНК намотана на гистоны и 30нм фибрилла, которая объединяет несколько нуклеосом в стержень. На стадии клеточного деления образуется еще несколько уровней компактизации, структура которых пока мало изучена. Новые молекулярно-биологические HiC данные показывают, что даже в интерфазе хроматин имеет вполне определенную сеть контактов, причем удивительно, эта сеть контактов в целом одинакова для разных типов клеток. Изучению и моделированию свойств этой сети контактов с точки зрения физики полимеров посвящена настоящая работа.

Работа построена традиционно и открывается кратким введением, в котором обосновывается актуальность выбранного направления исследований. Основной целью представленной работы была разработка модели полимерной цепи, которая наилучшим образом опишет наблюдения. Далее идет подробный литературный обзор, разбитый на две части. Первая посвящена изложению биологической стороны современного состояния науки о структуре хроматина. Уделено достаточно большое внимание экспериментальным подходам и данным, которые приносят молекулярно-биологические исследования. Наиболее важным для настоящей работы является наблюдение, что данные наилучшим образом описываются складчатой (фрактальной) глобулой. Именно такая структура лучше всего объясняет как матрицы

контактов, так и территориальную структуру хроматина. Эта часть завершается краткой сводкой основных сведений, что весьма облегчает понимание.

Во второй части литературного обзора описаны основные модели и методы физики полимеров, которые могут применяться для анализа структуры хроматина. В начале описана классическая теория перехода клубок-глобула, далее описан ряд моделей складчатой глобулы и подходы к анализу динамики полимеров. Анализ динамики сворачивания представляется весьма важным, поскольку характерные времена формирования структуры хроматина в клетке — минуты или небольшие десятки минут, в то время как ожидаемое время релаксации таких гигантских молекул как ДНК хромосом, может составлять столетия. К сожалению, эта часть не содержит краткой сводки сведений.

Основная часть работы собрана в 4 главы (главы 2-5). Анализ данных контактов в реальной клетке показал, что есть как минимум два типа участков хроматина, называемых компартментами А и В, которые предпочитают контактировать внутри себя и избегают контактов между собой. Поэтому в главе 2 обсуждается модель, в которой полимер имеет два типа мономеров, которые предпочитают контактировать с мономерами того же типа. Было проведено численное моделирование упаковки гетерополимера. При моделировании использовалась Марковская модель генерации последовательности. Численное моделирование показало, что такой тип взаимодействий приводит к формированию складчатой глобулы. Более того, картины матриц контактов имеют ту же структуру, что и реальные данные. Интересно было бы построить последовательность типов мономеров, которая соответствует реальным данным и воспроизвести реальную матрицу контактов.

Численное моделирование достаточно длинных полимеров представляет определенную вычислительную трудность. Поэтому в главе 3 рассмотрен ряд методов генерации конформаций полимеров, позволяющих обойти эту трудность. Здесь важно было получить структуры максимально похожие по своим статистическим свойствам к реальным данным и к структуре складчатой глобулы. Был предложен метод спектрального анализа, позволяющий оценивать качество модели.

На мой взгляд, анализ динамики фолдинга представляет наибольший интерес. Глава 4 посвящена моделированию процесса сворачивания. В работе была разработана качественно новая скейлинговая теория, описывающая диффузионные режимы движения в структурах произвольной фрактальной размерности. В клетке большую роль играет взаимодействие достаточно удаленных участков ДНК — энхансеров и промоторов. Время поиска партнера для такого взаимодействия является критически важным для правильной регуляции экспрессии

генов. Показано, что именно складчатая глобула позволяет достаточно быстро находить таких партнеров. Здесь уместно упомянуть несколько работ, связанных со скоростью формирования различных ядерных структур. Есть очень хорошая статья, посвященная динамике компактизации одной из копий X хромосомы. Кроме того, известны времена формирования ядерных структур, таких, как ядрышко или спеклы после клеточного деления. Было бы интересно оценить реальные времена образования таких структур.

Последняя глава стоит несколько особняком и посвящена укладке полимера на подложке. Автор в качестве биологического примера приводит упаковку генетического материала в капсиды вирусов. Однако есть гораздо более близкий к теме диссертации пример — роль ядерной стенки (ламинаы) в фолдинге хроматина. Это, по-видимому, может служить хорошей задачей для дальнейшей работы.

В целом текст очень хорошо структурирован. Каждая глава сопровождается введением с описанием того, что предполагается сделать и обсуждением, суммирующим результаты, полученные в главе. Однако, по тексту работы есть ряд замечаний:

с.46: «чередование участков с повышенной и пониженной интенсивностью цвета» — что такое цвет?

с.60: «первичная последовательность» — неправильный термин (предполагает существование как минимум «вторичной последовательности»)

Адекватность способов генерации цепи — эквивалентны ли цепи, построенные разными методами?

с.73: ссылка на неизвестный рисунок

с.76: ссылка на рис.28 (очевидно, была сделана смена нумерации и пропущен этот случай.)

с.80: «Мы считаем, что предложенная нами методика спектрального анализа может быть успешно применена при определении состояния полимерных систем по матрицам контактов» пример такого анализа хотя бы для одной реальной карты контактов сильно украсил бы работу.

с.85: «Для получения равновесного состояния было проведено 50 000 шагов передачи цепи» а через абзац говорится «Структуры были уравновешены в течении $3.2 \cdot 10^7$ шагов моделирования» -- что правда?

Указанные замечания не влияют на общую весьма положительную оценку работы. Важной особенностью диссертации является постоянное и четкое соотношение полученных результатов с реальными биологическими данными. Диссертация Леонида Игоревича Назарова «Статистическая теория структуры хроматина» является научно-квалификационной работой, в которой построен ряд моделей формирования структуры хроматина в клетке. Диссертационная

работа соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидат физико-математических наук, а ее автор Леонид Игоревич Назаров, безусловно заслуживает присуждения искомой степени. Автореферат и публикации полностью соответствуют содержанию диссертации.

Профессор Факультета биоинженерии и
биоинформатики МГУ им. М.В.Ломоносова
доктор биол.наук, канд. физ.-мат. наук, профессор



А.А.Миронов

119992, Москва, Ленинские горы, ГСП-2, МГУ, д.1, строение 73. Факультет биоинженерии и биоинформатики. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Миронов Андрей Александрович

тел.+7 910 462 9065

e-mal mironov@bioinf.fbb.msu.ru



Подпись руки профессора

А.А. Миронова заверяю.

Менеджер персонала

МИХАЙЛОВА И.М.



И.М. Михайлова

11.10.2017