

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.230.01, СОЗДАННОГО НА  
БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО  
ДИССЕРТАЦИИ ОСТРОМЫШЕНСКОГО ДМИТРИЯ ИГОРЕВИЧА НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело №

Решение диссертационного совета от 29 июня 2018 года № 234/412

О присуждении **ОСТРОМЫШЕНСКОМУ ДМИТРИЮ ИГОРЕВИЧУ**  
(гражданство - Российская Федерация) ученой степени кандидата биологических  
наук.

Диссертация **«СОСТАВ ХРОМОЦЕНТРОВ МЫШИ *IN SILICO* И ИХ  
ОСНОВНОЙ КОМПОНЕНТ, ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ, У МЫШЕВИДНЫХ  
ГРЫЗУНОВ»**

**по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология»**

**принята к защите** 25.04.2018 г. (протокол заседания № 233/411) Диссертационным  
советом Д 002.230.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН), адрес:  
194064, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., д. 4, утвержден приказом  
Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г. Частичные изменения Совета утверждены  
Приказом № 155/нк от 09.02.2018 г.

**Соискатель Остромышенский Дмитрий Игоревич**, 1985 года рождения, в 2013  
году окончил кафедру Цитологии и гистологии биолого-почвенного факультета  
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего  
образования «Санкт-Петербургский государственный университет» по направлению

подготовки «Биология», профиль «Клеточная биология, цитология, гистология, иммунология», с присвоением степени магистра. С 28.11.2014 по 31.09.2017 являлся соискателем ФГБУН Институт цитологии РАН — Группа некодирующей ДНК. Диссертация выполнена в порядке прохождения соискательства.

С 2015 года по настоящее время является младшим научным сотрудником Группы некодирующей ДНК ФГБУН Институт цитологии РАН.

**Диссертация выполнена** в Группе некодирующей ДНК Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

Научный руководитель — Ольга Игоревна Подгорная, доктор биологических наук (по специальности 03.00.25 - "Гистология, цитология, клеточная биология"), профессор, заведующая Группой некодирующей ДНК ФГБУН Институт цитологии РАН.

**Официальные оппоненты:**

1. **Александр Викентьевич Родионов**, доктор биологических наук (по специальности 03.00.15 — «Генетика»; 03.00.25 — «Гистология, цитология и клеточная биология»), профессор, заведующий лабораторией биосистематики и цитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук»

2. **Дмитрий Александрович Крамеров**, доктор биологических наук (по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология»), профессор, заведующий Лабораторией эволюции геномов эукариот Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук», Москва

**дали положительные отзывы на диссертацию**

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук» (ИМКБ СО РАН) (г. Новосибирск) в своем отзыве (заключение составлено заведующим Отдела

разнообразия геномов Руководителем научного направления ИМКБ СО РАН доктором биологических наук (специальность 03.00.15 — «Генетика»), профессором **Александром Сергеевичем Графодатским** и утверждено директором ИМКБ СО РАН, доктором биологических наук Сергеем Анатольевичем Демаковым) указала, что диссертационная работа является исследованием с ярко выраженным уровнем научной новизны. 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 требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология»,

и

**дала положительный отзыв на диссертацию**

Соискатель имеет 18 опубликованных работ по теме диссертации (объемом 5,82 печ. листа), из них 10 статей (9 – в изданиях, рекомендованных ВАК) и 8 тезисов докладов на 2 российских и 6 международных конференциях. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Д.И. Остромышенским работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

**Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

1. **Ostromyshenskii, D.I.**, Chernyaeva E.N., Kuznetsova I.S., Podgornaya O.I. (2018) Mouse chromocenters DNA content: sequencing and *in silico* analysis. BMC Genomics, 19, 159. DOI: 10.1186/s12864-018-4534-z

Статья посвящена высокопроизводительному секвенированию ДНК хромоцентров и последующему анализу результатов секвенирования. Определен качественный и количественный состав хромоцентров путем аннотации ридов секвенирования. Проведена сборка ридов ДНК хромоцентров и анализ полученных контигов. В статье

показано, что ДНК хромоцентров обогащена, по сравнению с полным геномом ERV II класса и в особенности IAP . Наличие IAP в хромоцентрах и центромерах подтверждено *in situ*. Проанализированы последовательности LINE и показано, что ДНК хромоцентров обогащено фрагментом LINE, включающим 3'-конец ORF2 и 3'-некодирующую область. Проведен анализ tandemных повторов в ДНК хромоцентров, показано, что только около половины из tandemных повторов, найденных в геноме мыши присутствуют в хромоцентрах.

2. Kuznetsova I. S., **Ostromyshenskii D. I.**, Komissarov A. S., Prusov A. N., Waisertreiger I. S., Gorbunova A. V., Podgornaya O. I. (2016). LINE-related component of mouse heterochromatin and complex chromocenters' composition. *Chromosome Research*, 24(3), 309–323

Статья посвящена клонированию ДНК и анализу полученных клонов. Показано, что большая часть клонов являются фрагментами 3'-конца ORF2 и 3'-некодирующей области. Показано, что аналогичные фрагменты присутствуют в сборках центромера человека. Проанализирован сложный состав хромоцентров на основании позиции клонов и tandemных повторов в хромоцентрах.

3. Подгорная О.И., **Острымышенский Д.И.**, Енукашвили, Н.И. (2018). Кому он нужен, этот мусор, или темная материя генома. *Биохимия*, 83(4), 610-628

В данной обзорной статье приведены последние данные по конститутивному гетерохроматину и основным последовательностям, входящим в его состав. На основании литературных и собственных данных обсуждаются вопросы функций гетерохроматина, значения для функционирования генома на разных стадиях развития организма ERV, LINE и tandemных повторов, входящих в состав гетерохроматина. Подробно изложены разные аспекты транскрипции tandemных повторов в эмбриогенезе, в нормальных терминально дифференцированных клетках и в клетках опухолей.

4. **Острымышенский Д.И.**, Кузнецова И.С., Комиссаров А.С., Картавцева И.В., Подгорная О.И. (2015). Tandemные повторы геномов мышевидных грызунов в базах данных и их картирование. *Цитология*, 57 (2), 102–110

В статье проведен анализ tandemных повторов (ТП) у близких видов мышей. Показано, что наборы ТП совпадают только у близкородственных видов мышей. Но

даже у таких видов наблюдаются различия в локализации на хромосомах и интенсивности метки отдельных ТП. Только отдельные семейства ТП остаются общими при увеличении эволюционного расстояния между видами.

5. Михеев Д.Ю., Подгорная О.И., **Острымышенский Д.И.** (2015). Большие тандемные повторы сирийского хомячка *Mesocricetus auratus* in silico и in situ. Цитология, 57 (2), 95–101

В работе осуществлен поиск тандемных повторов в относительно плохо собранном геноме сирийского хомячка (*Mesocricetus auratus*). In silico найдено 19 семейств больших тандемных повторов в геноме этого вида, причем только 1 семейство было ранее клонировано и идентифицировано как тандемный повтор. Для 4 семейств, предсказанных in silico тандемных повторов, с помощью гибридизации in situ показана локализация в области первичной перетяжки хромосом.

#### **На диссертацию и автореферат поступили отзывы:**

1. Старшего научного сотрудника лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Петрова Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидата биологических наук **Ирины Николаевны Васильевой**. Отзыв положительный, без замечаний.

2. Заместителя заведующего лабораторией вспомогательных медицинских технологий АО «Международный центр репродуктивной медицины», кандидата биологических наук **Алсу Фаритовны Сайфитдиновой**. Отзыв положительный, содержит замечание, касающееся неполноты изложения в автореферате характеристик центромерного тандемного повтора Y хромосомы, описанного в работе.

3. Главного научного сотрудника, руководителя лаборатории генетики Национального научного центра Морской биологии ДВО РАН, доктора биологических наук, профессора **Владимира Алексеевича Брыкова**. Отзыв положительный, содержит замечания о недочетах: наличие грамматических ошибок, неоправданное использование сокращений, приведение в списке работ по теме диссертации статьи «в печати».

4. Старшего научного сотрудника Лаборатории клеточной биологии и биологии развития Федерального научного центра Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, кандидата биологических наук **Татьяны Юрьевны Горпеченко**. Отзыв положительный, без замечаний.

5. Постоянного научного сотрудника Берлинского института Системной биологии Центра Молекулярной медицины Макса Дельбрука, кандидата биологических наук **Александра Сергеевича Кукалева**. Отзыв положительный, содержит замечание относительно наличия опечаток, а также вопрос «...существует ли корреляция между распределением LINE, SINE и ERV элементов в хромоцентрах и прилегающих к ним перицентромер-ассоциированных доменах (PADs), выявленных с помощью модифицированных 3С методов?».

6. Главного научного сотрудника Национального научного центра Морской биологии ДВО РАН, доктора биологических наук, профессора **Анатолия Леонидовича Дроздова**. Отзыв положительный, содержит замечание «...Недостатком автореферата является отсутствие внятного изложения с каким материалом работал диссертант».

7. Ведущего научного сотрудника Лаборатории экологии и морфологии морских беспозвоночных Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, доктора биологических наук, профессора **Валерии Васильевны Исаевой**. Отзыв положительный, без замечаний.

**В дискуссии принимали участие:**

1. Д.б.н., проф. М.И. Мосевичкий, член Диссертационного совета
2. Д.б.н. С.Ю. Хайтлина, член Диссертационного совета
3. Д.б.н С.О. Скарлато, член Диссертационного совета
4. Д.м.н. М.М. Шавловский, член Диссертационного совета
5. Д.б.н, проф., Е.Р. Гагинская, член Диссертационного совета

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов в области молекулярной и клеточной биологии, в частности исследований в области изучения гетерохроматина,

мобильных элементов генома, tandemных повторов (сателлитной ДНК), для более объективной оценки результатов, представленных в диссертации.

**Диссертационный совет отмечает**, что на основании выполненных соискателем исследований

**разработана и оптимизирована** методика определения состава гетерохроматиновых районов путем высокопроизводительного секвенирования с последующим биоинформатическим анализом выделенной биохимическим методом ДНК хромоцентров. Данный метод позволил определить качественный и количественный состав гетерохроматиновой части генома домового мыши;

**предложен** оригинальный подход к определению состава конститутивного гетерохроматина и анализу главного его компонента — tandemных повторов (сателлитной ДНК), а также сравнению tandemных повторов разных видов животных; **определен** качественный и количественный состав конститутивного гетерохроматина мыши;

**доказано**, что конститутивный гетерохроматин обогащен tandemными повторами, эндогенными ретровирусами (ERV) и в особенности IAP и фрагментом LINE (~2 т.п.н.);

**показаны** различия в наборах tandemных повторов у разных видов мышевидных грызунов.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**доказаны** положения, расширяющие современные представления о конститутивном гетерохроматине и tandemных повторах.

**Применительно к проблематике диссертации результативно использован** широкий комплекс современных методов молекулярной и клеточной биологии и биоинформатики: высокопроизводительное секвенирование ДНК, анализ данных секвенирования и современные программные пакеты и базы данных (Bowtie2, IDBA\_UD, Tandem Repeat Finder, Repeat Masker, Repbase, Genbank и др.); молекулярное клонирование, секвенирование по Сенгеру, флуоресцентная гибридизация *in situ*, флуоресцентная микроскопия, и кариотипирование;

**изложены** аргументы, основанные на полученных экспериментальных фактах в пользу сложной организации хромоцентров и особенностям эволюции tandemных повторов у мышевидных грызунов;

**раскрыты** особенности состава конститутивного гетерохроматина по сравнению с остальным геномом у домашней мыши, выявлено наличие ERV LTR, которые могут быть промоторами транскрипции tandemных повторов, выявлены неизвестные ранее диспергированные повторы половых хромосом.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**определен** качественный и количественный состав гетерохроматина мыши, что может быть полезным для дальнейшей работы по расшифровке последовательности этой части генома;

**определены** хромосомспецифичные варианты распределения tandemных повторов, что может быть использовано для идентификации отдельных хромосом без проведения кариотипирования;

**представлены** данные по специфическим последовательностям конститутивного гетерохроматина, которые могут быть применены при анализе пространственной организации хромосом в интерфазном ядре с различными методами фиксации конформации хромосом (3C, Hi-C).

Материалы диссертации используются в курсе лекций «Информационные ресурсы в биологии», разработанном для Школы естественных наук Дальневосточного федерального университета.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**результаты**, представленные в диссертации, получены на сертифицированном оборудовании, выбор методов обоснован спецификой работы и соответствует поставленным в работе задачам, достоверность экспериментальных результатов оценена с помощью адекватных методов анализа данных;

**теория** построена на известных, проверяемых литературных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации и по смежным областям;



**идея** базируется на анализе данных современной литературы, на полученных ранее в Группе некодирующей ДНК Лаборатории морфологии клетки ИИЦ РАН данных, а также их обобщении и сопоставлении с собственным экспериментальным материалом;

**выполнено** сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике;

**установлено**, что результаты работы согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике в тех случаях, когда такое сравнение было оправдано;

**использованы** современные экспериментальные подходы и адекватные им методы анализа данных.

**Личный вклад соискателя состоит в:**

непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, анализе и интерпретации данных, полученных с помощью современных методов клеточной и молекулярной биологии и биоинформатики. Все основные эксперименты автор выполнял лично. Автор принимал непосредственное участие в апробации полученных результатов на российских и международных научных конференциях и подготовке публикаций по теме диссертации.

Диссертация, посвященная изучению состава ДНК хромоцентров домовый мыши и анализу основного их компонента — тандемных повторов у домовый мыши и у других видов мышевидных грызунов, является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием в области молекулярной биологии, которое содержит решение научной задачи, имеющей большое значение для понимания структуры конститутивного гетерохроматина. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Д.И. Остромышенским работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Диссертационная работа по актуальности, достоверности и научной новизне полученных результатов полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 824 от 24 сентября 2013 года) по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология».

На заседании 29 июня 2018 года Диссертационный совет принял решение присудить **Остромышенскому Дмитрию Игоревичу** ученую степень кандидата биологических наук по специальности **03.01.03 - «Молекулярная биология»**.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве **21** человека, из них **7** докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвующих в заседании, из 24, входящих в состав Совета, проголосовали:

**ЗА - 21, ПРОТИВ — нет, недействительных бюллетеней нет**

Председатель

Диссертационного совета Д 002.230.01  
на базе ИНЦ РАН,  
доктор биологических наук, профессор



С.Н.Борхсениус

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 002.230.01  
на базе ИНЦ РАН,  
кандидат биологических наук

Е.В. Каминская

«02» июля 2018 г.