ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.035.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА БИОЛОГИИ ГЕНА

РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело №\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 07 февраля 2023 года № 1

О присуждении Ульянову Сергею Владимировичу, гражданину Российской Федерации, учёной степени доктора биологических наук.

Диссертация в виде научного доклада «Механизмы формирования и поддержания пространственной организации эукариотического генома» по специальности 1.5.3. Молекулярная биология принята к защите 01 ноября 2022 года (протокол заседания № 1) диссертационным советом 24.1.035.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук, 119334, г. Москва, улица Вавилова, дом 34/5; приказ 1044/нк от 14 сентября 2022 года.

Соискатель Ульянов Сергей Владимирович, 14 июня 1989 года рождения.

Диссертацию на соискание учёной степени кандидата биологических наук «Роль пространственной организации геномного локуса в феномене переключения экспрессии глобиновых генов» защитил в 2013 году в диссертационном совете Д 002.037.01, созданном на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук, работает старшим научным сотрудником в лаборатории структурно-функциональной организации хромосом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории структурно-функциональной организации хромосом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук.

Научный консультант – доктор биологических наук, профессор, чл.-корр. РАН Разин Сергей Владимирович, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук, главный научный сотрудник, заведующий отделом клеточной геномики.

Официальные оппоненты:

Кочетков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор, академик РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, заведующий лабораторией молекулярных основ действия физиологически активных соединений;

Лагарькова Мария Андреевна, доктор биологических наук, профессор РАН, чл.-корр. РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства», генеральный директор;

Михайлов Виктор Сергеевич, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, главный научный сотрудник лаборатории биохимии процессов онтогенеза

дали положительные отзывы на диссертацию в виде научного доклада.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск в своём положительном отзыве, подписанном ученым секретарем ФИЦ ИЦиГ СО РАН Орловой Галиной Владимировной, кандидатом биологических наук, указала, что диссертационная работа Ульянова С.В. посвящена изучению механизмов формирования и поддержания трёхмерной организации генома в разных эукариотических клетках у животных c различной таксономической принадлежности (дрозофилы, курицы и человека). В отзыве отмечено, что актуальность тематики не вызывает сомнений, она находится в тренде современной молекулярной биологии с перспективой исследования неизвестных механизмов регуляции экспрессии генома на разных уровнях его пространственной организации.

В отзыве сказано, что суммируя полученные Ульяновым С.В. результаты в пяти использованных экспериментальных моделях, следует отметить высокую научную значимость и оригинальность результатов. Многие из этих достижений получены впервые благодаря разработке Ульяновым С.В. целого ряда оригинальных экспериментальных и биоинформационных технологий: C-TALE, snHi-C, ORBITA, пентадный анализ и др. Результаты диссертации опубликованы в 32 статьях, из которых 30 категории Q1 и 2 категории Q2; импакт-фактор 9-ти статей варьирует от 14.91 до 49.96. Из этого следует, что опубликованные данные Ульянова С.В. прошли строгое научное рецензирование и не удивительно, что они хорошо цитируются, например, статьи Genome Research 2016, 26(1):70-84 и Nature 2017, 544(7648):110-114 – более 200 и 500 цитирований, соответственно. Материалы диссертации Ульянова С.В. были представлены на 22-х международных и российских конференциях, семинарах и научно-практических школах, из которых 11 зарубежных и 11 российских площадках в период с 2015 по 2021 гг.

В отзыве ведущей организации в заключении указано, что диссертационная работа Ульянова Сергея Владимировича «Механизмы формирования и поддержания пространственной организации эукариотического генома», представленная к защите на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора биологических наук и установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а её автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Соискатель имеет 46 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 32 работы в рецензируемых научных изданиях.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах.

По теме диссертационной работы опубликованы следующие статьи в порядке значимости:

1. **Ulianov S.V.**, Velichko A.K., Magnitov M.D., Luzhin A.V., Golov A.K., Ovsyannikova N., Kireev I.I., Gavrikov A.S., Mishin A.S., Garaev A.K., Tyakht A.V., Gavrilov A.A., Kantidze O.L., Razin S.V. (**2021**) Suppression of liquid–liquid phase separation by 1,6-hexanediol partially compromises the 3D genome organization in living cells. *Nucleic Acids Research*, 49(18):10524-10541. doi: 10.1093/nar/gkab249.

Импакт-фактор: **16.48**, квартиль: **Q1**.

В работе продемонстрирована роль жидко-жидкостного разделения фаз в компартментализации генома человека. Соискатель планировал стратегию Hi-C-анализа, выполнил работу по картированию топологии генома клеток человека на фоне ингибирования фазового разделения, принимал непосредственное участие в обработке и интерпретации данных, в разработке алгоритма пентадного анализа, и в подготовке публикации.

2. **Ulianov S.V.**, Zakharova V.V., Galitsyna A.A., Kos P.I., Polovnikov K.E., Flyamer I.M., Mikhaleva E.A., Khrameeva E.E., Germini D., Logacheva M.D., Gavrilov A.A., Gorsky A.S., Nechaev S.K., Gelfand M.S., Vassetzky Y.S., Chertovich A.V., Shevelyov Y.Y., Razin S.V. (**2021**) Order and stochasticity in the folding of individual Drosophila genomes. *Nature Communications,* 12(1):41. doi: 10.1038/s41467-020-20292-z.

Импакт-фактор: **14.91**, квартиль: **Q1**.

В работе показана консервативность профиля ТАДов в индивидуальных клетках дрозофилы, а также относительный вклад стохастичных и детерминированных процессов в формирование топологических структур в хроматине. Соискатель сформулировал цель и задачи работы, руководил получением и анализом экспериментальных данных, участвовал в интерпретации и обобщении результатов, подготовке публикации.

3. **Ulianov S.V.**, Doronin S.S., Khrameeva E.E., Kos P.I., Luzhin A.V., Starikov S.S., Galitsyna A.A., Nenasheva V.V., Ilyin A.A., Flyamer I.M., Mikhaleva E.A., Logacheva M.D., Gelfand M.S., Chertovich A.V., Gavrilov A.A., Razin S.V., Shevelyov Y.Y. (**2019**) Nuclear lamina integrity is required for proper spatial organization of chromatin in Drosophila. *Nature Communications,* 10(1):1176. doi: 10.1038/s41467-019-09185-y.

Импакт-фактор: **14.91**, квартиль: **Q1**.

В данной работе исследована роль ядерной ламины в поддержании структуры ТАДов дрозофилы, показано, что механическое прикрепление к ламине способно компактизовать хроматин. Соискатель получил данные о топологии геноме дрозофилы на фоне разрушения ядерной ламины, провёл планирование стратегии анализа данных, принимал участие в анализе и интерпретации данных Hi-C, соотнесении их с эпигенетическими и транскриптомными профилями.

4. **Ulianov S.V.**, Galitsyna A.A., Flyamer I.M., Golov A.K., Khrameeva E.E., Imakaev M.V., Abdennur N.A., Gelfand M.S., Gavrilov A.A. and Razin S.V. (**2017**) Activation of the alpha-globin gene expression correlates with dramatic upregulation of nearby non-globin genes and changes in local and large-scale chromatin spatial structure. *Epigenetics and Chromatin*, 10(1):35. doi: 10.1186/s13072-017-0142-4.

Импакт-фактор: **4.95**, квартиль: **Q1**.

В работе на примере локуса альфа-глобиновых генов кур продемонстрирована условность понятия «геномный домен» и исследованы эффекты активации тканеспецифичной экспрессии на ближайшее хромосомное окружение. Соискатель получил и интерпретировал все основные экспериментальные данные, принимал участие в подготовке публикации.

5. **Ulianov S.V.**, Khrameeva E.E., Gavrilov A.A., Flyamer I.M., Kos P., Mikhaleva E.A., Penin A.A., Logacheva M.D., Imakaev M.V., Chertovich A. et al. (**2016**) Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into topologically associating domains. *Genome Research*, 26(1):70-84. doi: 10.1101/gr.196006.115.

Импакт-фактор: **9.04**, квартиль: **Q1**.

В работе исследовано формирование ТАДов в геноме дрозофилы в результате множественных межнуклеосомных взаимодействий. Соискатель формулировал концепцию исследования и получил основные экспериментальные данные, непосредственно участвовал в их обработке и анализе, в подготовке публикации.

6. Flyamer I.M., Gassler J., Imakaev M., Brandao H.B., **Ulianov S.V.**, Abdennur N., Razin S.V., Mirny L.A. and Tachibana-Konwalski K. (**2017**) Single-nucleus Hi-C reveals unique chromatin reorganization at oocyte-to-zygote transition. *Nature*, 544(7648):110-114. doi: 10.1038/nature21711.

Импакт-фактор: **49.96**, квартиль: **Q1**.

В работе исследована топология генома единичных ооцитов и пронуклеусов мыши, показано, что материнский пронуклеус лишён компартментализации хроматина. Соискатель принимал участие в получении и интерпретации данных и в разработке метода snHi-C, участвовал в подготовке графических материалов для публикации.

7. **Ulianov S.V.** and Razin S.V. (**2021**) The two waves in single-cell 3D genomics. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 121:143-152. doi: 10.1016/j.semcdb.2021.05.021.

Импакт-фактор: **6.25**, квартиль: **Q1**.

В статьи суммированы имеющиеся к моменту публикации данные о топологии генома единичных клеток в разных таксонах. Соискатель сформулировал тему работу, проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

8. **Ulianov S.V.**, Tachibana-Konwalski K. and Razin S.V. (**2017**) Single-cell Hi-C bridges microscopy and genome-wide sequencing approaches to study 3D chromatin organization. *BioEssays*, 39(10). doi: 10.1002/bies.201700104.

Импакт-фактор: **4.34**, квартиль: **Q1**.

В статье проведён анализ того, как микроскопические и биохимические данные о топологии генома единичных клеток взаимодополняют друг друга. Соискатель сформулировал тему работу, проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

9. **Ulianov S.V.**, Gavrilov A.A. and Razin S.V. (**2015**) Nuclear compartments, genome folding, and enhancer-promoter communication. *International review of cell and molecular biology*, 315:183-244. doi: 10.1016/bs.ircmb.2014.11.004.

Импакт-фактор: **6.27**, квартиль: **Q1**.

В статье суммированы имеющиеся на момент публикации данные о взаимосвязи компартментализации клеточного ядра и механизмах контроля экспрессии генов. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

10. Razin S.V., **Ulianov S.V.** (**2022**) Genome-directed cell nucleus assembly. *Biology*, 11(5):708. doi: 10.3390/biology11050708.

Импакт-фактор: **5.07**, квартиль: **Q1**.

В статье на основе анализа большого корпуса литературных данных выдвинута концепция, согласно которой формирование ядерных структур во многом определяется пространственной организацией хроматина. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

11. Razin S.V., **Ulianov S.V.** (**2020**) Divide and Rule: Phase Separation in Eukaryotic Genome Functioning. *Cells*, 9(11):2480. doi: 10.3390/cells9112480.

Импакт-фактор: **6.60**, квартиль: **Q1**.

В статье рассмотрены разнообразные аспекты взаимосвязи жидко-жидкостного разделения фаз и процессов реализации генетической информации. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

12. Shevelyov Y.Y., **Ulianov S.V.** (**2019**) The Nuclear Lamina as an Organizer of Chromosome Architecture. *Cells*, 8(2):136. doi: 10.3390/cells8020136.

Импакт-фактор: **6.60**, квартиль: **Q1**.

В статье суммированы данные о роли ядерной ламины в формировании и поддержании пространственной архитектуры интерфазных хромосом. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

13. Razin S.V., **Ulianov S.V.** (**2017**) Gene functioning and storage within a folded genome. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 22:18. doi: 10.1186/s11658-017-0050-4.

Импакт-фактор: **5.78**, квартиль: **Q1**.

В статье комплексно рассмотрена взаимосвязь регуляции транскрипции пространственной организации генома. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

14. Zakharova V.V., Magnitov M.D., Del Maestro L., **Ulianov S.V.**, Glentis A., Uyanik B., Williart A., Karpukhina A., Demidov O., Joliot V., Vassetzky Y.S., Mege R.-M., Piel M., Razin S.V., Ait-Si-Ali S. (**2022**) SETDB1 fuels the lung cancer phenotype by modulating epigenome, 3D genome organization and chromatin mechanical properties. *Nucleic Acids Research*, 50(8):4389–413. doi: 10.1093/nar/gkac234.

Импакт-фактор: **16.48**, квартиль: **Q1**.

 В работе раскрыта роль гистоновой метилтрансферазы SETDB1 в фенотипе и клеточной физиологии клеток рака лёгкого. Соискатель формулировал проблематику исследования в части изучения геномной топологии, получил основные соответствующие экспериментальные данные, непосредственно участвовал в их обработке и анализе.

15. Magnitov M.D., Garaev A.K., Tyakht A.V., **Ulianov S.V.**, Razin S.V. (**2022**) Pentad: a tool for distance‑dependent analysis of Hi‑C interactions within and between chromatin compartments. *BMC Bioinformatics*, 23(1):116. doi: 10.1186/s12859-022-04654-6.

Импакт-фактор: **3.16**, квартиль: **Q1**.

В работе предложен новый метод изучения пространственной организации генома – пентадный анализ. Соискатель является соавтором идеи, принимал непосредственное участие в реализации и тестировании алгоритма.

16. Ilyin A.A., Kononkova A.D., Golova A.V., Shloma V.V., Olenkina O.M., Nenasheva V.V., Abramov Y.A., Kotov A.A., Maksimov D.A., Laktionov P.P., Pindyurin A.V., Galitsyna A.A., **Ulianov S.V.**, Khrameeva E.E., Gelfand M.S., Belyakin S.N., Razin S.V., Shevelyov Y.Y. (**2022**) Comparison of genome architecture at two stages of male germline cell differentiation in Drosophila. *Nucleic Acids Research*, 50(6):3203-3225. doi: 10.1093/nar/gkac109.

Импакт-фактор: **16.48**, квартиль: **Q1**.

В работе проведён сравнительный анализ топологии генома двух последовательных стадий дифференцировки мужских половых клеток дрозофилы – сперматогониев и сперматоцитов. Соискатель получал экспериментальные данные, участвовал в их анализе и интерпретации.

17. Gao M., Veil M., Rosenblatt M., Riesle A.J., Gebhard A., Hass H., Buryanova L., Yampolsky L., Gruning B., **Ulianov S.V.**, Timmer J., Onichtchouk D. (**2022**) Pluripotency factors determine gene expression repertoire at zygotic genome activation. *Nature Communications*, 13(1):788. doi: 10.1038/s41467-022-28434-1.

Импакт-фактор: **14.91**, квартиль: **Q1**.

В работе исследована роль факторов плюрипотентности в активации зиготической транскрипции на уровне ремоделирования хроматина энхансерных элементов. Соискатель участвовал в анализе и интерпретации данных.

18. Ivanova V., Chernevskaya E., Vasiluev P., Ivanov A., Tolstoganov I., Shafranskaya D., Ulyantsev V., Korobeynikov A., Razin S.V, Beloborodova N., **Ulianov S.V.**, Tyakht A. (**2022**) Hi-C Metagenomics in the ICU: Exploring Clinically Relevant Features of Gut Microbiome in Chronically Critically Ill Patients. *Frontiers in Microbiology*, 12:770323. doi: 10.3389/fmicb.2021.770323.

Импакт-фактор: **5.64**, квартиль: **Q1**.

В работе с использованием метода Hi-C исследован микробиом (в том числе эукариотический) кишечника пациентов, долгое время находящихся в реанимации. Картированы 3-геномы ряда членов сообщества, прослежена локализация отдельных плазмид и фагов. Соискатель участвовал в получении, анализе и интерпретации экспериментальных данных.

19. Shevelyov Y.Y., **Ulianov S.V.**, Gelfand M.S., Belyakin S.N., Razin S.V. (**2022**) Dosage compensation in Drosophila: its canonical and non-canonical mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10976. doi: 10.3390/ijms231810976.

Импакт-фактор: **6.20**, квартиль: **Q1**.

В статье суммированы данные о каноническом и неканоническом пути дозовой компенсации в клетках дрозофилы. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

20. Kos P.I., Galitsyna A.A., **Ulianov S.V.**, Gelfand M.S., Razin S.V., Chertovich A.V. (**2021**) Perspectives for the reconstruction of 3D chromatin conformation using single cell Hi-C data. *PLoS Computational Biology*, 17(11):e1009546. doi: 10.1371/journal.pcbi.1009546.

Импакт-фактор: **4.71**, квартиль: **Q1**.

В работе проанализированы возможности и ограничения моделирования трёхмерной структуры хроматина, исходя из данных Hi-C единичных клеток. Соискатель участвовал в анализе и интерпретации данных.

21. Luzhin A.V., Golov A.K., Gavrilov A.A., Velichko A.K., **Ulianov S.V.**, Razin S.V., Kantidze O.L. (**2021**) LASCA: loop and significant contact annotation pipeline. *Scientific reports*. 11(1):6361. doi: 10.1038/s41598-021-85970-4.

Импакт-фактор: **4.37**, квартиль: **Q1**.

В работе предложен новый метод аннотации петлевых взаимодействий в хроматине. Соискатель принимал участие в тестировании и отладке алгоритма.

22. Polovnikov K., Gorsky A., Nechaev S., Razin S.V., **Ulianov S.V.** (**2020**) Non-backtracking walks reveal compartments in sparse chromatin interaction networks. *Scientific reports*, 10(1):11398. doi: 10.1038/s41598-020-68182-0.

Импакт-фактор: **4.37**, квартиль: **Q1**.

В работе предложен принципиально новый метод аннотации контактных доменов и компартментов в данных Hi-C единичных клеток. Соискатель принимал участие в тестировании и отладке алгоритма.

23. Magnitov M.D., Kuznetsova V.S., **Ulianov S.V.**, Razin S.V., Tyakht A.V. (**2020**) Benchmark of software tools for prokaryotic chromosomal interaction domain identification. *Bioinformatics*, 36(17):4560-4567. doi: 10.1093/bioinformatics/btaa555.

Импакт-фактор: **7.14**, квартиль: **Q1**.

В работе выполнен комплексный сравнительный анализ биоинформатических инструментов для поиска контактных доменов в геномах прокариот. Одной из целью работы был анализ возможности использования этих инструментов для работы с компактными эукариотическими геномами (главным образом, с геномами протистов и грибов). Соискатель принимал участие в интерпретации получаемых данных и подготовке публикации.

24. Gavrilov A.A., Zharikova A.A., Galitsyna A.A., Luzhin A.V., Rubanova N.M., Golov A.K., Petrova N.V., Logacheva M.D., Kantidze O.L., **Ulianov S.V.**, Magnitov M.D., Mironov A.A., Razin S.V. (**2020**) Studying RNA-DNA interactome by Red-C identifies noncoding RNAs associated with various chromatin types and reveals transcription dynamics. *Nucleic Acids Research*. 48(12):6699-6714. doi: 10.1093/nar/gkaa457.

Импакт-фактор: **16.48**, квартиль: **Q1**.

В работе предложен новый метод анализа взаимодействий РНК с хроматином, прослежены закономерности в установлении РНК-ДНК контактов для разных типов РНК. Соискатель принимал участие в разработке метода.

25. Golov A.K., **Ulianov S.V.**, Luzhin A.V., Kalabusheva E.P., Kantidze O.L., Flyamer I.M., Razin S.V., Gavrilov A.A. (**2019**) C-TALE, a new cost-effective method for targeted enrichment of Hi-C/3C-seq libraries. *Methods*, 170:48-60. doi: 10.1016/j.ymeth.2019.06.022.

Импакт-фактор: **3.60**, квартиль: **Q1**.

В работе предложен новый метод обогащения 3C/Hi-C библиотек с целью увеличения разрешения данных при снижении глубины секвенирования библиотек. Соискатель является автором идеи метода, принимал непосредственное участие в его отладке.

26. Egorova T.V., Zotova E.D., Reshetov D.A., Polikarpova A.V., Vassilieva S.G., Vlodavets D.V., Gavrilov A.A., **Ulianov S.V.**, Buchman V.L., Deykin A.V. (**2019**) CRISPR/Cas9-generated mouse model of Duchenne muscular dystrophy recapitulating a newly identified large 430 kb deletion in the human DMD gene. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 12(4):dmm037655. doi: 10.1242/dmm.037655.

Импакт-фактор: **5.75**, квартиль: **Q1**.

В работе продемонстрировано, что протяжённая делеция в гене DMD может быть сопряжена с формированием петли хроматина между границами делеции. Соискатель принимал участие в анализе и интерпретации данных Hi-C.

27. Luzhin A.V., Flyamer I.M., Khrameeva E.E., **Ulianov S.V.**, Razin S.V., Gavrilov A.A. (**2019**) Quantitative differences in TAD border strength underly the TAD hierarchy in Drosophila chromosomes. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(3):4494-4503. doi: 10.1002/jcb.27737.

Импакт-фактор: **4.42**, квартиль: **Q2**.

В работе исследована природа иерархичности структуры ТАДов в геноме дрозофилы. Соискатель получал экспериментальные данные и принимал непосредственное участие в их анализе и интерпретации.

28. Kovina A.P., Petrova N.V., Gushchanskaya E.S., Dolgushin K.V., Gerasimov E.S., Galitsyna A.A., Penin A.A., Flyamer I.M., Ioudinkova E.S., Gavrilov A.A., Vassetzky Y.S., **Ulianov S.V.**, Iarovaia O.V., Razin S.V. (**2017**) Evolution of the Genome 3D Organization: Comparison of Fused and Segregated Globin Gene Clusters. *Molecular Biology and Evolution*, 34(6):1492-1504. doi: 10.1093/molbev/msx100.

Импакт-фактор: **16.24**, квартиль: **Q1**.

В работе прослежены закономерности топологии хроматина в геномных доменах глобиновых генов рыбы-зебры. Соискатель руководил получением данных 5C, их анализом и интерпретацией, участвовал в подготовке публикации.

29. Razin S.V., Gavrilov A.A., Vassetzky Y.S., **Ulianov S.V.** (**2016**) Topologically-associating domains: gene warehouses adapted to serve transcriptional regulation. *Transcription*, 7(3):84-90. doi: 10.1080/21541264.2016.1181489.

Импакт-фактор: **3.12**, квартиль: **Q1**.

В статье рассмотрена функциональная роль ТАДов в геномах животных. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

30. Gavrilov A.A., Shevelyov Y.Y., **Ulianov S.V.**, Khrameeva E.E., Kos P., Chertovich A. and Razin S.V. (**2016**) Unraveling the mechanisms of chromatin fibril packaging. *Nucleus*, 7(3):319-24. doi: 10.1080/19491034.2016.1190896.

Импакт-фактор: **4.19**, квартиль: **Q1**.

В работе суммированы данные о механизмах, направляющих формирование топологических структур в хроматине. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

31. Gushchanskaya E.S., Artemov A.V., **Ulyanov S.V.**, Logacheva M.D., Penin A.A., Kotova E.S., Akopov S.B., Nikolaev L.G., Iarovaia O.V., Sverdlov E.D. et al. (**2014**) The clustering of CpG islands may constitute an important determinant of the 3D organization of interphase chromosomes. *Epigenetics*, 9(7):951-63. doi: 10.4161/epi.28794.

Импакт-фактор: **4.52**, квартиль: **Q1**.

В работе продемонстрировано, что пространственные взаимодействия CpG-островков являются одним из факторов, создающих специфический ландшафт контактов в хроматине. Соискатель принимал участие в получении, анализе и интерпретации экспериментальных данных и подготовке публикации.

32. Iarovaia O.V., Kovina A.P., Petrova N.V., Razin S.V., Ioudinkova E.S., Vassetzky Y.S., **Ulianov S.V.** (**2018**) Genetic and Epigenetic Mechanisms of β-Globin Gene Switching. *Biochemistry (Moscow)*, 83(4):381-392. doi: 10.1134/S0006297918040090.

Импакт-фактор: **2.48**, квартиль: **Q2**.

В статье суммируется информация о механизмах, контролирующих переключение экспрессии бета-глобиновых генов. Соискатель проводил сбор и анализ литературных данных, участвовал в подготовке текста публикации.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы из:

Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» от доктора биологических наук Шеваля Евгения Валерьевича;

Биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» от чл.-корр. РАН, доктора физико-математических наук Шайтана Алексея Константиновича;

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук от чл.-корр. РАН, доктора биологических наук Воротеляк Екатерины Андреевны;

Национального Центра Научных Исследований Франции, Института Гюстава Русси, (Вильжюиф, Франция) от доктора биологических наук Васецкого Егора Сергеевича.

Все отзывы положительные, в них отмечается, что материалы, изложенные в диссертации в форме научного доклада, свидетельствуют о том, что диссертационная работа Ульянова С.В. соответствует требованиям «Положения о присуждении учёных степеней», а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени доктора биологических наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается схожестью тематики их научных исследований с тематикой представляемой работы, а также их авторитетом и высоким уровнем выполняемых исследований.

Кочетков Сергей Николаевич, академик РАН, доктор химических наук, профессор является специалистом в области физико-химической биологии, и в частности в сфере белково-нуклеиновых взаимодействий.

Чл.-корр. РАН, доктор биологических наук, профессор РАН Лагарькова Мария Андреевна является специалистом в области эпигенетической регуляции работы генома.

Доктор биологических наук, профессор Михайлов Виктор Сергеевич является специалистом в области биологии ядра, и в частности в сфере структуры и функций ДНК-связывающих белков.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в качестве основных направлений научной деятельности имеет молекулярную генетику, изучение структурно-функциональной организации генома, протеома и хромосом, а также исследование механизмов реализации генетической информации.

Диссертационный совет 24.1.035.01 при ИБГ РАН, рассмотрев диссертацию Ульянова Сергея Владимировича «Механизмы формирования и поддержания пространственной организации эукариотического генома» пришел к заключению, что диссертация содержит научно-обоснованное решение актуальной задачи исследования молекулярных механизмов формирования разнообразных топологических структур в хроматине эукариот*.*

Работа обладает научной новизной, имеет значимость для теории и практики, представляет собой законченное научное исследование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**Предложены:** (1) Модель формирования топологически-ассоциированных доменов (ТАДов) на основе множественных транзиентных электростатических взаимодействий нуклеосом. (2) Комплекс технических контролей качества данных Hi-C, получаемых из индивидуальных клеток.

**Разработаны** методы анализа пространственной организации генома: snHi-C, ORBITA, C-TALE, пентадный анализ.

**Доказаны:** (1) Наличие прямой взаимосвязи между взаимодействием хроматина с ядерной ламиной и степенью его компактности. (2)Условность границ геномных доменов на примере локуса альфа-глобиновых генов кур.

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

**Изложены** аргументы в пользу вклада стохастических и детерминированных процессов в установление и поддержание трёхмерной структуры генома единичных клеток.

**Раскрыты:** (1) Принципы формирования ТАДов в неактивном хроматине и роль высокого уровня транскрипции и ацетилирования гистонов в установлении границ доменов. (2) Закономерности формирования ТАДов на уровне индивидуальных хромосом.

**Изучены** взаимосвязиразделения жидких фаз и компартментализации генома человека на разных структурных уровнях и эффекты активации транскрипции альфа-глобиновых генов на хромосомное окружение.

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

**Разработаны** и внедрены в исследовательскую практику методы получения и анализа данных о трёхмерной структуре хроматина эукариот.

**Представлены** методические указания для процессинга и интерпретации данных Hi-C на индивидуальных клетках.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

Достоверность полученных результатов определяется использованием современных экспериментальных и вычислительных подходов, сертифицированного и калиброванного оборудования с необходимым количеством контрольных и валидационных экспериментов и подтверждается публикацией результатов в ведущих рецензируемых журналах.

**Личный вклад соискателя состоит в** том, что он принимал непосредственное участие в определении стратегии исследований, планировании и проведении экспериментальной работы, систематизации, анализе и интерпретации получаемых данных, обобщении и публикации результатов работы. Все основные экспериментальные результаты, описанные в настоящей работе, получены автором лично, под его руководством или при непосредственном его участии.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие замечания:

*Ведущая организация - ФИЦ ИЦиГ СО РАН отметила, что:*

1. В работе систематически используется анализ частот контактов хроматина, полученных методом Hi-C, для ответа на вопрос о степени компактизации локуса (например, стр. 46, строка 1; стр. 27, абзац 2). Следует учитывать, что Hi-C-контакты относительны и, например, уменьшение расстояний между локусами на разных хромосомах, соответствующих транс-контактам хроматина, будет автоматически приводить к изменению частоты цис-контактов - даже если расстояние между ними не изменилось. В связи с этим, полученные оценки частот нужно интерпретировать с осторожностью.

2. Многие оценки, приведенные в разделе 2.1. сделаны на основе сравнения границ ТАДов между разными типами клеток. Однако известно (Zufferey et al., 2018), что алгоритмы для выделения границ ТАДов чувствительны к качеству и разрешению Hi-C-карт. Кроме того, наличие границы ТАДа является качественной характеристикой, в то время как инсуляторные свойства локусов не имеют порогового значения, то есть можно представить себе ситуации, при которых одна и та же область, обладая инсуляторными свойствами, не выделяется в одном из типов клеток из-за меньшего эффекта инсуляции. Все это может сказываться на точности полученных количественных оценок.

3. Использование алгоритма Armatus для оценки инсуляторной способности региона (стр. 25, последнее предложение на странице) неудачно, поскольку этот алгоритм выделяет ТАДы на основе обогащения контактами внутри локуса, а не инсуляции локуса от окружения. Существуют альтернативные алгоритмы, например, инсуляторный индекс на основе подсчета контактов в ромбовидной области карты Hi-C (“diamond” insulatory score) - такие алгоритмы дают более прямую информацию об уровне инсуляции на границе ТАДов.

4. В разделе 2.2.1 в метрике (1) анализируется число контактов в скользящих окнах равного размера. В тексте указано, что наблюдалось значимое различие наблюдаемых контактов от ожидаемого для случайных карт, но не приводится мера статистической значимости (p-value или q-value).

5. На стр. 36 в первом абзаце раздела 2.2.1 на основе сопоставления Hi-C-карт индивидуальных клеток делается заключение о том, что в клетках дрозофилы ТАДы более консервативны. Не может ли сниженное сходство Hi-C-карт хромосом мыши по сравнению с дрозофилой объясняться тем, что у мыши Hi-C-карты существенно беднее (в среднем 0.6% от максимального числа контактов детектированных в индивидуальных клетках мыши по сравнению с 5% контактов в индивидуальных клетках дрозофилы)?

6. На стр. 43 авторы приводят гипотезу о том, что комплекс когезин может останавливаться “сталкиваясь” с “крупным” препятствием. Сама гипотеза о том, что когезин останавливается в местах активной транскрипции, кажется логичной, однако аргументация, связанная с размером препятствия, противоречит данным коллег автора (Golov et al., 2021) и других групп (Pradhan et al., 2022) показавших, что когезин связывается с ДНК нетопологически и способен, за счет этого, преодолевать крупные барьеры.

*Соискатель С.В. Ульянов согласился с замечаниями ведущей организации, а так же дал следующие пояснения:*

1. Совершенно согласен, что анализируемая частота контактов является величиной относительной. Однако стоит отметить, что абсолютное большинство опубликованных данных говорит о том, что частота контактов двух локусов и физическое расстояние между ними в пространстве ядра хорошо коррелируют.

2. Данные из четырёх использованных клеточных типов обладали схожим качеством и анализировались при одном и том же разрешении, а именно: 20 тысяч пар нуклеотидов, так что вклад внутренних параметров Hi-C данных в аннотацию границ ТАДов можно считать систематической ошибкой. Безусловно, локальные инсуляционные флуктуации могут отражаться на результатах картирования границ, однако этот фактор в разных участках генома может приводить как к ложноотрицательным, так и к ложноположительным результатам аннотации. Представляется, что количество случаев первого и второго рода должно быть примерно одинаковым.

3. Действительно, Armatus не является инструментом оценки инсуляционных свойств геномного региона. Однако он успешно картирует границы ТАДов, а именно это мы делали в упомянутой части работы. Поскольку аннотации, полученные при различных величинах управляющего параметра, согласуются с результатами визуального анализа карт и очевидно являются биологически релевантными, мы воспользовались ими для проверки выдвинутой гипотезы.

4. Мера статистической значимости (P-value) указана на рисунке 10.

5. Для сравнения консервативности профилей ТАДов были взяты данные snHi-C клеток мыши с удельным покрытием контактами, сравнимым с таковым в наших данных из клеток дрозофилы.

6. Не топологическое связывание, безусловно, позволяет когезину преодолевать крупные барьеры, но это не означает, что прохождение когезина через них будет совершенно беспрепятственным. Мы полагаем, что в местах генома с высокой плотностью крупных ферментативных комплексов на хроматине скорость движения экструдера должна падать из-за высокой плотности барьеров. В подтверждение этого говорят данные Micro-C, согласно которым практически все районы активного хроматина в клетках млекопитающих формируют системы слабых петель друг с другом.

*В отзыве официального оппонента академика РАН, доктора химических наук, профессора Кочеткова Сергея Николаевича отмечается, что:*

1. Вводная часть практически не содержит информации о том, что уже известно о механизмах фолдинга хроматина, в результате чего постановка цели работы несколько «повисает в воздухе».

2. Поскольку все ключевые статьи по теме диссертации выполнялись большими коллективами из нескольких лабораторий, при описании полученных данных следовало бы больше внимания уделить личному вкладу автора.

3. Модель формирования ТАДов в геноме дрозофилы предложена на основании корреляционных данных. Сам по себе тот факт, что границы ТАДов расположены в активном хроматине, не говорит о том, что именно активный хроматин является фактором, задающим позиции границ, поэтому модель явно страдает от недостатка экспериментальной проверки.

4. При интерпретации данных о роли фазового разделения в структуре хроматина автор упускает из виду, что слабые гидрофобные взаимодействия (которые ингибируются 1,6-гександиолом) – не единственный тип связей, способных удерживать макромолекулярные комплексы в составе конденсатов. Например, электростатические взаимодействия, которые в первой части работы представлены как механизм формирования ТАДов, никак не рассматриваются в контексте фазового разделения.

5. При сравнении транскриптомных данных из трёх клеточных линий курицы видно, что межгенная транскрипция в дифференцированных эритробластах возрастает по всему геному. Из текста работы не ясно, на каком основании автор утверждает, что повышенная транскрипция межгенных участков в альфа-глобиновом домене связана именно активацией альфа-глобиновых генов.

*Соискатель С.В. Ульянов согласился с замечаниями оппонента, а также дал следующие пояснения:*

1. Согласен с замечанием Сергея Николаевича. Отчасти недостаток этой информации связан с тем, что формат работы в виде научного доклада предполагает краткость изложения. Кроме того, о механизмах формирования топологических структур в хроматине действительно известно не много. По большому счёту, с уверенностью мы можем говорить только о том, что в геномах теплокровных CTCF-зависимые петли образуются посредством экструзии хроматина когезиновым комплексом.

2. Действительно, все проекты, вошедшие в диссертацию – плод коллективного труда большого числа наших коллег из нескольких институтов в России и за рубежом. Однако, как указано в соответствующем разделе диссертации, я принимал непосредственное участие в получении, анализе и интерпретации данных во всех ключевых работах.

3. Согласен с замечанием Сергея Николаевича. В настоящее время у нас в разработке находится несколько проектов, в которых мы рассчитываем получить прямые экспериментальные подтверждения предложенной модели. В частности, мы исследуем результаты эктопического привлечения гистонацетилтрансфераз в районы неактивного хроматина, чтобы понять, способно ли индуцированное таким образом ацетилирование гистонов создать топологическую границу.

4. Безусловно, фазовые конденсаты, судя по всему, создаются несколькими типами слабых взаимодействий. Проблема этой области в отсутствии достаточного «инструментария» для исследования разделения фаз in vivo. По большому счёту, гександиол – единственная молекула, эффекты которой были хорошо охарактеризованы на клеточном уровне. Так, было показано, что по его воздействием разбираются некоторые ядерные тельца. По этой причине данная часть работы была проделана с использованием именно этого соединения. Касательно электростатических взаимодействий: мы реанализировали опубликованные данные о том, что происходит с топологией хроматина на фоне гиперосмотического шока, то есть, в условиях, когда конкурируется именно этот тип контактов. Оказалось, что и в этом случае наблюдается ослабление компартментализации хроматина. Однако – в отличие от воздействия гександиола – эффекты гиперосмотического шока полностью обратимы.

5. Хотел бы обратить внимание на то, что межгенная транскрипция наиболее усиливается именно в альфа-глобиновом локусе. Принимая во внимание тот факт, что при дифференцировке эритроидных клеток глобиновые гены транскрибируются на очень высоком уровне (практически как рРНК), я полагаю, что это отражается (напрямую или опосредованно) и на уровне межгенной транскрипции. Безусловно, однако, существуют и некие другие факторы усиления межгенной транскрипции, о которых мы не можем судить по полученным результатам.

*В отзыве официального оппонента доктора биологических наук, профессора Михайлова Виктора Сергеевича отмечается, что:*

В подписи к рисунку 2 перепутаны обозначения панелей Б и В и дублирован номер рисунка 30.

*Соискатель С.В. Ульянов согласился с замечанием оппонента:*

Сожалею, что допустил эти оплошности.

 *Вопросы, которые были заданы в ходе защиты диссертации:*

В отзыве на автореферат диссертации от чл.-корр. РАН, доктора физико-математических наук Шайтана Алексея Константиновича (Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова) отмечено, что:

1. В разделе 2.1.4. указано, что «Расположение границ ТАДов и междоменных районов в областях активного хроматина указывает на то, что эти регионы генома не склонны формировать плотные глобулярные структуры. Это может объясняться ацетилированием остатков лизина в N-концевых доменах гистонов, что препятствует межнуклеосомным взаимодействиям, для которых необходимо наличие положительно заряженного N-концевого домена для взаимодействия с негативно заряженной площадкой (acidic patch) на другой нуклеосоме.» Данное предположение кажется несколько упрощенным в свете современных представлений. Специфическое взаимодействие с кислотным лоскутом (acidic patch) описано в основном для хвоста гистона H4, где ацетилирование H4K16 может препятствовать этому взаимодействию. В то же время значительно большее количество ацетилируемых лизинов присутствует на других хвостах гистонов, которые взаимодействуют с ДНК. Ацетилирование может приводить к общей дестабилизации нуклеосом, включая откручивание и флуктуации концов нуклеосомальной ДНК. Такая подвижность ДНК сама по себе влияет на структуру хроматина изменяя ее топологические характеристики (см. например, Armeev et al. Nat. Comm. 2021). Кроме того, в областях активного хроматина может содержаться меньше нуклеосом, ориентационное позиционирование нуклеосом может способствовать декомпактизации хроматина, равно как и отсутствие различных вспомогательных белков (H1, HP1a и т.д.) может быть значимым фактором, влияющим на структуру хроматина в данной области.

2. В ходе прочтения работы иногда возникали вопросы по обобщению корреляций на причинно-следственные связи в отношении свойств ТАДов. Например, название раздела 2.1.2 «Активный хроматин и транскрипция способствуют декомпактизации ТАДов». Может ли быть верно и обратное утверждение «Декомпактизация ТАДов способствует активации хроматина и транскрипции»?

*Соискатель С.В. Ульянов дал следующие пояснения:*

1. Я глубоко признателен Алексею Константиновичу за это дополнение и согласен с тем, что в активном хроматине изменение множества параметров структуры и поведения нуклеосомы может влиять на топологические характеристики хроматина.

2. Если принять, что сначала хроматин декомпактизуется, и только потом происходит изменение его эпигенетического статуса, то приходится признать, что существует некий гипотетический механизм разрыхления хроматина, отличный от ацетилирования и всего, что с ним связано (привлечение активаторов по механизму петли обратной связи, активация транскрипции и прочее). При интерпретации данных мы старались опираться на опубликованные результаты, которые вполне однозначно говорят о том, что именно ацетилирование гистонов – главная причина деконденсации хроматина. Кроме того, известно, что коэффициенты диффузии для крупных молекул очень схожи в интерфазном и метафазном хроматине. А это означает, что для доступа активаторов и полимеразы к генам нет необходимости в предварительной декомпактизации геномного региона. По этим причинам я полагаю, что всё-таки изменения эпигенетического статуса хроматина и активация транскрипции первичны по отношению к декомпактизации ТАДов, которая является следствием этих процессов (вполне вероятно, что сама по себе декомпактизация и не имеет существенной функциональной нагрузки).

 *Вопросы, которые были заданы в ходе защиты диссертации:*

*1.* *От академика РАН, доктора химических наук, профессора Кочеткова Сергея Николаевича:*

Были ли у Вас эксперименты, в которых были клетки разных типов? Потому что если учесть, что клетки дифференцированы, то картины для них должны несколько различаться. Что-то в этом роде Вы делали? Есть ли достоверная разница между клетками, скажем, печени и сердца?

*2. От доктора биологических наук, профессора Крамерова Дмитрия Александровича:*

Когда Вы показываете глобиновый район, почему Вы демонстрируете только то, что расположено слева от домена, и оставляете за скобками то, что находится справа? Это не показательно, не значимо?

*На них соискатель дал следующие ответы:*

1. Всё очень сильно зависит от того, с какими типами клеток мы работаем. Тривиальный пример: если мы берём ИПСК или эмбриональные стволовые клетки, то там, в целом, всё более рыхло, потому что хроматин ацетилирован. Но если мы сравниваем – условно – гепатоциты с нейронами, то, судя по всему, масштабных отличий нет. То есть: везде есть компартменты, ТАДы, правила одни и те же. А изменения мы видим, когда начинаем смотреть на какие-то конкретные локусы: гены, которые определяют фенотип, которые работают или не работают в данном клеточном типе. Отличия локальные. Есть, конечно, и другие примеры. В мышином материнском пронуклеусе нет компартментализации. И насколько нам известно, это до сих пор единственный пример такой организации. Но если мы смотрим на карты дифференцированных клеток, то – если не знать, каким клеткам какая карта принадлежит – различить их невозможно.

2. Конкретно этот участок генома предпочтителен тем, что здесь очень разный геномный контекст. То есть, у нас есть два района, богатых генами, и между ними генная пустыня. Конечно, мы не знали заранее, как будет выглядеть карта. Если бы мы расширили область вправо, где районы с большим количеством генов, то мы не увидели бы этой компартментализации, не увидели бы этого дифференциального ответа генной пустыни и других районов на активацию альфа-глобиновых генов. Поэтому в какой-то степени нам повезло, что мы взяли регион слева, а не справа от альфа-глобинового домена.

На заседании 7 февраля 2023 года диссертационный совет принял решение за исследование механизмов формирования и поддержания пространственной организации эукариотического генома присудить Ульянову Сергею Владимировичу учёную степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 14 докторов наук по специальности «молекулярная биология», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 14, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

**Председатель**

**Диссертационного совета Мельникова Лариса Сергеевна**

**Учёный секретарь**

**Диссертационного совета Набирочкина Елена Николаевна**

7 февраля 2023 года