

## Отзыв

**доктора биологических наук профессора Рубцова Николая Борисовича на автореферат диссертации Тихонова Андрея Владимировича «ХРОМОСОМНАЯ, КЛЕТОЧНАЯ И ТКАНЕВАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ГИДРОКСИМЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ПРОЭМБРИОНАЛЬНЫЙ И ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА», представленной на соискание ученой степени кандидата биологической наук по специальности: 03.02.07 – Генетика**

• Актуальность исследований, выполненных Тихоновым А.В. при подготовке диссертации, не вызывает сомнений. Полученные им данные имеют значение как для развития академической науки, так и прикладное: для создания новых технологий пренатальной и доимплантационной диагностики. Исследование можно считать, если не уникальным, то редким случаем эффективного использования образцов эякулята от доноров спермы и от пациентов из бесплодных пар, образцов биоптатов тканей семенника пациентов, имеющих нормальный кариотип, с диагнозом азооспермия, неоплодотворившихся яйцеклеток на стадии метафазы второго деления мейоза, зигот и бластомеров дробящихся зародышей человека до стадии бластоцисты включительно, образцов эмбрионального лёгкого и цитотрофобласта хориона эмбрионов человека, которые были изучены с применением методов современной цитогенетики, включающих приготовление цитологических препаратов, иммуноокрашивание, флуоресцентную гибридизацию *in situ* и люминесцентную микроскопию.

В результате проведенных исследований Тихонову А.В. удалось достичь поставленной цели: описать поэтапные изменения характера гидроксиметилирования ДНК в гаметогенезе, доимплантационном и постимплантационном эмбриогенезе человека. В представленной работе впервые исследованы паттерны гидроксиметилирования ДНК метафазных хромосом человека в половых клетках, зиготах, бластомерах, клетках эмбриональных и экстраэмбриональных тканей эмбриона. Показано предпочтительное деметилирование в зиготе метафазных хромосом отцовского происхождения, которое проходит с образованием 5hmC. Описаны межхромосомные, межклеточные и межтканевые различия гидроксиметилирования ДНК метафазных хромосом эмбрионов человека 5-12 недельного возраста, которые, вероятно, обусловлены случайными комбинациями гидроксиметилированных, гемигидроксиметилированных и негидроксиметилированных сестринских хроматид. Полученные данные, указывающие на связь характера гидроксиметилирования сперматозоидов в эякуляте с нарушениями фертильности могут иметь большое практическое значение,.

Заключение и выводы, представленные в работе, базируются на надежных и убедительных результатах. Однако, было бы правильно более осторожно сформулировать в «Научной новизне» утверждение, что «Гидроксиметилированная ДНК неравномерно распределена в метафазных хромосомах зигот: 5hmC преимущественно локализован в R-, но не G- и C-сегментах». Границы R- и G-сегментов на представленных в автореферате изображениях выглядят достаточно нечетко. На рисунке 3, где представлены имиджи хромосом 1, 9 и 16 стрелками указаны R-сегменты, но не их границы. Более того, на коротком плече хромосомы 9 (на схеме показано 3 R-сегмента) стрелками указаны только 2 R-сегмента.

Некоторые замечания, которые могут быть сделаны в результате прочтения автореферата, главным образом, связаны с некоторой небрежностью в представлении иллюстративного материала, включая подписи на рисунках и к рисункам. На том же рисунке 3 лучше было бы написать хромосомы отца и хромосомы матери, чем ♂ хромосомы и ♀ хромосомы. На рисунке приведены профили интенсивностей флуоресцентного сигнала, но не указано, по какой линии они были измерены, а в подписи к рисунку они вообще не упомянуты. На рисунке 1 представлены хромосомы триплоидной зиготы, окрашенные с помощью антител к 5hmC и к 5mC, а также их QFN/АсD-окрашивание. Из-за отсутствия видимой морфологии хромосом и приведенного масштаба читатель не в состоянии самостоятельно разобраться с представленными данными. На рисунке 8 представлены не сперматогоний и сперматоциты, а группы распластаных хромосомы из них, которые можно было бы дополнительно обозначить стрелками, так как имиджи содержат кроме них интерфазные ядра других клеток.

Приведенные замечания не могут повлиять на заключительную оценку представленной диссертационной работы. Анализ автореферата Тихонова Андрея Владимировича «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека» позволяет сделать вывод о том, что данная работа является серьезным исследованием, отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением №842 Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановления Правительства РФ 21.04.2016 года №335, №748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Тихонов А.В. , заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Доктор биологических наук, профессор  
(03.02.07 – Генетика), главный научный сотрудник  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
Федеральный исследовательский центр  
Институт цитологии и генетики СО РАН

Рубцов Н.Б.

Рубцов Николай  
Борисович

Контактные данные  
Адрес: 630090 Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10  
Тел. 8-383-363-4981  
Эл. Почта: [rubt@bionet.nsc.ru](mailto:rubt@bionet.nsc.ru)

Подпись подтверждаю  
04.05.2018 г.  
Заведующая канцелярией



Кичеева Н.А.