

ПРОТОКОЛ № 34.06-12-1-11
ЗАСЕДАНИЯ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.232.12
при Федеральном государственном бюджетном образовательном
учреждении высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»
по защите диссертации Тихонова Андрея Владимировича на тему
«Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность
гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный
периоды развития человека»
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.07 – «генетика»
от 21 июня 2018 года

ПРИСУТСТВОВАЛИ:

	Фамилия Имя Отчество	Ученая степень	Специальность
1	Инге-Вечтомов Сергей Георгиевич	Д.б.н.	03.02.07
2	Дондуа Арчил Карпезович	Д.б.н.	03.03.05
3	Харазова Алла Давидовна	Д.б.н.	03.03.04
4	Галкина Светлана Анатольевна	К.б.н.	03.03.04
5	Баранов Владислав Сергеевич	Д.м.н.	03.02.07
6	Боголюбов Дмитрий Сергеевич	Д.б.н.	03.03.05
7	Гагинская Елена Романовна	Д.б.н.	03.03.05
8	Даев Евгений Владиславович	Д.б.н.	03.02.07
9	Десницкий Алексей Григорьевич	Д.б.н.	03.03.05
10	Журавлева Галина Анатольевна	Д.б.н.	03.02.07
11	Кудрявцев Борис Николаевич	Д.б.н.	03.03.04
12	Лутова Людмила Алексеевна	Д.б.н.	03.02.07
13	Мамон Людмила Андреевна	Д.б.н.	03.03.05
14	Падкина Марина Владимировна	Д.б.н.	03.03.04
15	Пиневич Александр Васильевич	Д.б.н.	03.03.04
16	Самбук Елена Викторовна	Д.б.н.	03.02.07
17	Смирнов Александр Федорович	Д.б.н.	03.02.07
18	Тихонович Игорь Анатольевич	Д.б.н.	03.03.04
19	Чекунова Елена Михайловна	Д.б.н.	03.02.07

ПОВЕСТКА ДНЯ

Защита диссертации Тихонова Андрея Владимировича на тему «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика».

Слушали:

доклад Тихонова Андрея Владимировича по теме диссертации «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека» по специальности 03.02.07 – «генетика».

По докладу вопросы задавали: д.б.н. Б.Н. Кудрявцев, д.б.н. Л.В. Козикова, д.б.н. Е.В. Самбук, д.б.н. М.В. Падкина, д.б.н. С.Г. Инге-Вечтомов, д.б.н. Е.Р. Гагинская, д.б.н. Е.В. Даев, д.б.н. Л.А. Лутова, д.б.н. Л.А. Мамон.

Выступление научного руководителя д.м.н, профессора Баранова В.С.

Оглашение ученым секретарем заключения ведущей организации и отзывов на автореферат:

Ведущая организация, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, предоставила положительное заключение, подписанное **Дыбаном Павлом Андреевичем**, доктором медицинских наук (03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология), ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярной цитогенетики развития млекопитающих Отдела молекулярной генетики. Заключение утверждено доктором биологических наук, профессором **Дмитриевым Александром Валентиновичем**, директором ФГБНУ ИЭМ. В отзыве указано, что представленная к защите диссертационная работа А.В.Тихонова является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, результаты которой имеют существенное

значение для современной генетики. В отзыве нет существенных замечаний по работе.

Отзывы на автореферат получены:

- От **Рубцова Николая Борисовича**, доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, главного научного сотрудника Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр института цитологии и генетики СО РАН. Отзыв положительный, содержит замечания, связанные с небрежностью в представлении иллюстративного материала, включая подписи на рисунках и к рисункам.
- От **Черных Вячеслава Борисовича**, доктора медицинских наук по специальности 03.02.07 – генетика, заведующего лабораторией генетики нарушения репродукции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр». Отзыв положительный замечаний не содержит.
- От **Харченко Татьяны Владимировны**, кандидата биологических наук по специальностям 05.26.02 – безопасность в чрезвычайных ситуациях (по отраслям), 03.02.07 – генетика, заведующей кафедрой медицинской генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения РФ. Отзыв положительный, содержит замечания о перегруженности автореферата допущениями и предположениями, непроработанности представления группы пациентов с нарушением фертильности, о преждевременном заключении внедрения метода оценки качества спермы.
- От **Медведевой Анны Владимировны**, кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.02.07 – генетика, старшего научного сотрудника лаборатории нейrogenетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологии им.

И.П. Павлова РАН». Отзыв положительный, содержит вопрос: «Существуют ли какие-либо литературные данные, объясняющие различия в эпигенетическом программировании разнородительских пронуклеусов?»

• От **Лебедева Игоря Николаевича**, доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, профессора РАН, заместителя директора по научной работе, руководителя лаборатории цитогенетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук». Отзыв положительный, замечаний не содержит.

• От **Вячеслава Михайловича Михайлова**, доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, профессора, ведущего научного сотрудника Института цитологии РАН. Отзыв положительный и замечаний не содержит.

Выступление официального оппонента **Козиковой Ларисы Васильевны**, доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, доцента, ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К.Эрнста».

Выступление официального оппонента **Боголюбовой Ирины Олеговны**, кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, доцента, старшего научного сотрудника лаборатории морфологии клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

Ответы на замечания оппонентов.

В дискуссии приняли участие д.б.н, профессор, академик РАН Инге-Вечтомов С. Г., д.б.н. Б.Н. Кудрявцев.

Выборы счетной комиссии. В счетную комиссию единогласно были избраны: д.б.н. М.В. Падкина, д.б.н. Е.В. Даев, д.б.н. Б.Н. Кудрявцев.

Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что диссертация А.В. Тихонова является оригинальным, законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием, полностью отвечающим требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата биологических наук (п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 8 докторов наук по специальности 03.02.07 – «генетика», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 19, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

На заседании 21 июня 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Тихонову Андрею Владимировичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика».

21 июня 2018 г.

Председатель диссертационного совета Д 212.232.12
доктор биологических наук,
профессор, академик РАН



Инге-Вечтомов С.Г.

Ученый секретарь диссертационного совета Д 212.232.12
Кандидат биологических наук

Галкина С.А.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.232.12
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от «21» июня 2018 г.
протокол № 34.06-12-1-11

О присуждении **Тихонову Андрею Владимировичу**, гражданину РФ,
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека» по специальности 03.02.07 – «генетика» принята к защите 29.03.2018 г., протокол № 34.06-12-1-6, диссертационным советом Д 212.232.12 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», находящегося по адресу: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. д.7-9, СПбГУ, биологический факультет, кафедра генетики и биотехнологии. Диссертационный совет утвержден приказом о формировании совета №105/нк от 11.04.2012, приказами №293/нк от 29.05.2014, №386/нк от 27.04.2017 о частичных изменениях состава совета.

Соискатель Тихонов Андрей Владимирович, 1990 года рождения, в 2013 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет». В период с 01.09.2013 по 31.08.2016 г. проходил обучение в

очной аспирантуре в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» на кафедре генетики и биотехнологии.

В период подготовки диссертации Андрей Владимирович работал в должностях биолога и санитаря в Санкт-Петербургском казённом учреждении здравоохранения Диагностический (медико-генетический) центр, а с января 2014 года по настоящее время – лаборантом-исследователем в лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врождённых болезней человека НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О.Отта.

Диссертационная работа выполнена на кафедре генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета и в лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врождённых болезней человека НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О.Отта.

Научный руководитель: **Баранов Владислав Сергеевич**, доктор медицинских наук по специальности 03.00.11 – «эмбриология и гистология», профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней Федерального государственного бюджетного научного учреждения «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта».

Официальные оппоненты:

Козикова Лариса Васильевна, доктор биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К.Эрнста»;

Боголюбова Ирина Олеговна, кандидат биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, доцент, старший научный сотрудник лаборатории морфологии клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии РАН, дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, предоставила положительное заключение, подписанное **Дыбаном Павлом Андреевичем**, доктором медицинских наук (03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология), ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярной цитогенетики развития млекопитающих Отдела молекулярной генетики. Заключение утверждено доктором биологических наук, профессором **Дмитриевым Александром Валентиновичем**, директором ФГБНУ ИЭМ. В отзыве указано, что представленная к защите диссертационная работа А.В.Тихонова является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, результаты которой имеют существенное значение для современной генетики. В отзыве нет существенных замечаний по работе.

Соискатель имеет 38 публикаций, по теме диссертации 19 работ. 7 статей опубликованы в научных журналах и изданиях из «Перечня рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций» Высшей Аттестационной Комиссии при Министерстве образования и науки РФ. 11 работ по теме диссертации опубликовано в материалах международных и всероссийских конференций. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В., Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Метилирование ДНК – основной механизм репрограммирования и регуляции генома человека // Медицинская генетика. – 2012. – Т. 11, №4. – С. 10-18.

2. Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В., Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Гидроксильная форма 5-метилцитозина – 5-гидроксиметилцитозин: новый взгляд на биологическую роль в геноме млекопитающих // Экологическая генетика. – 2014. – Т. XII, № 1. – С. 3-13. (версия на английском языке: Efimova OA, Pendina AA, Tikhonov AV, Kuznetzova TV, Baranov VS. Oxidized form of 5-methylcytosine – 5-hydroxymethylcytosine: a new insight into the biological significance in the mammalian genome // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2015. Vol. 5(2). – P. 75-81).
3. Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В., Чиряева О.Г., Петрова Л.И., Дудкина В.С., Садик Н.А., Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Сравнительный иммуноцитохимический анализ профилей метилирования ДНК метафазных хромосом из лимфоцитов взрослых индивидов и плодов человека // Молекулярная медицина. – 2015. – №3. – С. 17-21.
4. Efimova OA, Pendina AA, Tikhonov AV, Fedorova ID, Krapivin MI, Chiryayeva OG, Shilnikova EM, Bogdanova MA, Kogan IY, Kuznetzova TV, Gzgzryan AM, Ailamazyan EK, Baranov VS. Chromosome hydroxymethylation patterns in human zygotes and cleavage-stage embryos // Reproduction. – 2015. – Vol. 149(3). – P. 223-233.
5. Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В., Баранов В.С. Эволюция представлений о биологической роли кислородсодержащих производных 5-метилцитозина в геноме млекопитающих // Экологическая генетика. – 2016. – Т. XVI, № 4. – С. 14-25.
6. Тихонов А.В., Ефимова О.А., Пендина А.А., Баранов В.С. Эпигенетическое репрограммирование ДНК в гаметях и доимплантационных эмбрионах человека // Медицинская генетика. – 2017. – Т.16, №5. – С. 17-25.
7. Efimova OA, Pendina AA, Tikhonov AV, Parfenyev SE, Mekina ID, Komarova EM, Mazilina MA, Daev EV, Chiryayeva OG, Galembo IA, Krapivin MI, Glotov OS, Stepanova IS, Shlykova SA, Kogan IY, Gzgzryan AM, Kuznetzova TV, Baranov VS. Genome-wide 5-hydroxymethylcytosine patterns in human

spermatogenesis are associated with semen quality // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8(51). P. 88294-88307.

8. Глава в монографии: A.A. Pendina, O.A. Efimova, A.V. Tikhonov, O.G. Chiryayeva, I.D. Fedorova, A.S. Koltsova, M.I. Krapivin, S.E. Parfenyev, T.V. Kuznetzova, V.S. Baranov. Immunofluorescent staining for cytosine modifications like 5-methylcytosine and its oxidative derivatives and FISH, in «*Fluorescence In Situ Hybridization (FISH): Application Guide*» 2nd Edition, edited by T. Liehr, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2017, pp. 337-346; Pages: 606.

На автореферат поступили 6 отзывов:

- От **Рубцова Николая Борисовича**, доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, главного научного сотрудника Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр института цитологии и генетики СО РАН. Отзыв положительный, содержит замечания, связанные с небрежностью в представлении иллюстративного материала, включая подписи на рисунках и к рисункам.
- От **Черных Вячеслава Борисовича**, доктора медицинских наук по специальности 03.02.07 – генетика, заведующего лабораторией генетики нарушения репродукции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр». Отзыв положительный замечаний не содержит.
- От **Харченко Татьяны Владимировны**, кандидата биологических наук по специальностям 05.26.02 – безопасность в чрезвычайных ситуациях (по отраслям), 03.02.07 – генетика, заведующей кафедрой медицинской генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения РФ. Отзыв положительный, содержит замечания о перегруженности автореферата допущениями и предположениями, непроработанности представления группы пациентов с

нарушением фертильности, о преждевременном заключении внедрения метода оценки качества спермы.

- От **Медведевой Анны Владимировны**, кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 – физиология, 03.02.07 – генетика, старшего научного сотрудника лаборатории нейрогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН». Отзыв положительный, содержит вопрос: «Существуют ли какие-либо литературные данные, объясняющие различия в эпигенетическом программировании разнородительских пронуклеусов?»
- От **Лебедева Игоря Николаевича**, доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, профессора РАН, заместителя директора по научной работе, руководителя лаборатории цитогенетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук». Отзыв положительный, замечаний не содержит.
- От **Вячеслава Михайловича Михайлова**, доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, профессора, ведущего научного сотрудника Института цитологии РАН. Отзыв положительный и замечаний не содержит.

В отзывах на автореферат отмечается актуальность и важность полученных данных как для развития академической науки, так и прикладное значение. Во всех отзывах присутствует заключение о том, что диссертант заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов в области цитогенетики и генетики развития, к которым относится диссертационная работа.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **предложен** метод оценки качества спермы на основе выявления гидроксиметилированных сперматозоидов в эякуляте, что важно для повышения эффективности вспомогательных репродуктивных технологий. **Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что впервые **проведён** анализ гидроксиметилирования ДНК метафазных хромосом из половых клеток, зигот, бластомеров дробящихся зародышей и клеток эмбриональных и экстраэмбриональных тканей постимплантационных эмбрионов человека; **установлено**, что на стадии зиготы метафазные хромосомы отцовского происхождения деметилированы с образованием 5-гидроксиметилцитозина в большей степени, чем метафазные хромосомы; **показано**, что гидроксиметилированная ДНК распределена неравномерно в метафазных хромосомах зигот человека: 5-гидроксиметилцитозин преимущественно локализован в R-, но не G- и C- сегментах; **установлено**, что при делениях дробления эмбриона человека вплоть до стадии бластоцисты происходит пассивная потеря 5-гидроксиметилцитозина с образованием гемигидроксиметилированных хромосом и сохранением сегментоспецифичного распределения 5-гидроксиметилцитозина в гидроксиметилированных хроматидах. **Получены** уникальные данные о межхромосомных, межклеточных и межтканевых различиях гидроксиметилирования ДНК метафазных хромосом эмбрионов человека 5-12 недель развития, обусловленные случайным сочетанием гидроксиметилированных, гемигидроксиметилированных и негидроксиметилированных сестринских хроматид и гомологичных хромосом. **Установлена** связь между параметрами спермограммы и характером гидроксиметилирования сперматозоидов в эякуляте. Увеличение доли гидроксиметилированных сперматозоидов ассоциировано со снижением качества эякулята и нарушениями фертильности.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики определяется тем, что полученные результаты служат основой

разработки и важны для совершенствования методов оценки функционального состояния генома. Оценка характера гидроксиметилирования мужских гамет является новым информативным критерием качества эякулята, которая может быть использована во вспомогательных репродуктивных технологиях.

Оценка достоверности результатов исследования выявила наличие детального анализа представленных в отечественных и зарубежных источниках данных по теме исследования. Методическая база, использованная при получении результатов, представлена комплексом современных цитогенетических и молекулярно-биологических методов, эксперименты повторены достаточное количество раз; результаты получены на сертифицированном оборудовании; данные, представленные в работе, являются достоверными и воспроизводимыми. Теоретические обобщения согласуются с результатами, полученными в работе и представленными в литературе по теме исследования.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании работ, подборе и оптимизации методик, организации и проведении экспериментов, в анализе литературы по теме работы, теоретическом обобщении и статистической обработке результатов, подготовке публикаций. Материалы обсуждались и публиковались совместно с соавторами и научным руководителем. Отдельные эксперименты были выполнены при участии Крапивина М.И., Парфеньева С.Е.

Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что диссертация А.В. Тихонова является оригинальным, законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием, полностью отвечающим требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата биологических наук (п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842).

На заседании 21 июня 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Тихонову Андрею Владимировичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 8 докторов наук по специальности 03.02.07 – «генетика», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 19, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

21 июня 2018 г.

Председатель диссертационного совета Д 212.232.12
доктор биологических наук, профессор, академик РАН

Ученый секретарь диссертационного совета Д 212.232.12
кандидат биологических наук



Инге-Вечтомов С.Г.

Галкина С.А.