

## ВЫПИСКА

из протокола заседания совета Д 212.232.12  
по защите докторских и кандидатских диссертаций  
при Санкт-Петербургском государственном университете  
№ 34.06-12-1-6 от 29 марта 2018 года

Состав Диссертационного совета утвержден в количестве 25 человек.

**П Р И С У Т С Т В О В А Л И:** 19 из 25 членов диссертационного совета

Председатель	д.б.н., академик РАН Инге-Вечтомов Сергей Георгиевич
Заместитель председателя	д.б.н., проф. Дондуа Арчил Карпезович
Заместитель председателя	д.б.н., проф. Харазова Александра Давидовна
Ученый секретарь	к.б.н. Галкина Светлана Анатольевна

Члены совета:

Д.м.н. Баранов Владислав Сергеевич  
Д.б.н. Боголюбов Дмитрий Сергеевич  
Д.б.н. Гагинская Елена Романовна  
Д.б.н. Десницкий Алексей Григорьевич  
Д.б.н. Ересковский Александр Вадимович  
Д.б.н. Журавлева Галина Анатольевна  
Д.б.н. Краснощекова Елена Ивановна  
Д.б.н. Кудрявцев Борис Николаевич  
Д.б.н. Лутова Людмила Алексеевна  
Д.б.н. Мамон Людмила Андреевна  
Д.б.н. Матвеева Татьяна Валерьевна  
Д.б.н. Обухов Дмитрий Константинович  
Д.б.н. Падкина Марина Владимировна  
Д.б.н. Самбук Елена Викторовна  
Д.б.н. Чекунова Елена Михайловна

**С Л У Ш А Л И:** Председателя экспертной комиссии Совета д-ра биол. наук Е.Р. Гагинскую (состав комиссии: д-р биол. наук Е.Р. Гагинская, специальность 03.03.05 – биология развития, эмбриология; д-р биол. наук А.Ф. Смирнов, специальность 03.02.07 – генетика; д-р биол. наук Л.А. Мамон, специальность 03.03.05 – биология развития, эмбриология) о диссертации **Тихонова Андрея Владимировича** «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика», выполненной на кафедре генетики и биотехнологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» и в лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» (научный руководитель – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор Баранов В.С.).

**П О С Т А Н О В И Л И:**

1. Утвердить заключение комиссии по решению вопроса о допустимости выявленного объема текстовых совпадений между текстом диссертации **Тихонова Андрея Владимировича** «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека», и источниками, авторство которых установлено, и признать диссертацию авторской оригинальной работой.

2. Утвердить заключение комиссии по решению вопроса о соответствии диссертации **Тихонова Андрея Владимировича** «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека» профилю Диссертационного совета Д 212.232.12 и заявленной теме.
3. Принять диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук к защите.
4. Назначить официальными оппонентами:

№	ФИО	Ученая степень	Ученое звание	Должность и место работы
1	Козикова Лариса Васильевна	доктор биологических наук	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 имени академика Л.К. Эрнста»
2	Боголюбова Ирина Олеговна	кандидат биологических наук	доцент	старший научный сотрудник лаборатории морфологии клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук

5. утвердить в качестве ведущей организации Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины».
6. Назначить дату защиты диссертации на 21.06.2018 г. в 14.00.
7. Утвердить список организаций и лиц для рассылки автореферата.
8. Рекомендовать представленный вариант автореферата на правах рукописи к печати.

РЕЗУЛЬТАТЫ ГОЛОСОВАНИЯ: «ЗА» - 19, «ПРОТИВ» - нет, «ВОЗДЕРЖАЛСЯ» - нет. Решение Диссертационного совета принято единогласно.

Председатель Диссертационного  
совета Д212.232.12  
д-р биол. наук, профессор,  
академик РАН



С.Г. Инге-Вечтомов

Ученый секретарь Диссертационного  
совета Д212.232.12  
канд. биол. наук



С.А. Галкина



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

экспертной комиссии Диссертационного совета Д 212.232.12 по диссертации Тихонова Андрея Владимировича «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика»

Экспертная комиссия Диссертационного совета Д 212.232.12 в составе председателя комиссии – доктора биологических наук, профессора Гагинской Елены Романовны, членов комиссии – доктора биологических наук, профессора Смирнова Александра Федоровича, доктора биологических наук Мамон Людмилы Андреевны, представляющих в Совете специальность 03.02.07 – генетика и специальность 03.03.05 – биология развития, эмбриология, рассмотрела рукопись кандидатской диссертации Тихонова Андрея Владимировича «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека», выполненную на кафедре генетики и биотехнологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» и в лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней человека ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О.Отта» (научный руководитель – член-корр. РАН, з.д.н., д.м.н., профессор Баранов Владислав Сергеевич).

Представленная диссертационная работа получила положительное заключение экспертной группы ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», заседание которой состоялось 5 марта 2018 года.

На основании ознакомления с кандидатской диссертацией Тихонова А.В. и состоявшегося обсуждения комиссия приняла следующее заключение.

Работа посвящена актуальной теме, имеющей фундаментальное и прикладное значение. Метилирование ДНК является ключевой эпигенетической модификацией генома и участвует не только в регуляции генетической активности, но и контролирует множество биологических процессов в клетке. 5-метицитозин может подвергаться ферментативному окислению, которое является механизмом активного (ферментативного) деметилирования ДНК – одного из ключевых этапов эпигенетического репрограммирования генома гамет и эмбрионов млекопитающих. Одним из промежуточных продуктов реакции окисления является 5-гидроксиметилцитозин. 5-гидроксиметилцитозин – не только маркер процесса активного деметилирования, но и стабильная модификация цитозина со своими собственными функциями.

Ответ на вопрос о том, когда устанавливается, как поддерживается и каким образом изменяется в геноме человека распределение 5-гидроксиметилцитозина, представляет, как фундаментальную, так и практическую значимость. При этом, наибольшего внимания заслуживают периоды гаметогенеза и эмбриогенеза, когда происходит репрограммирование генома и становление эпигенетических профилей, регулирующих дальнейшую реализацию программы развития.

В диссертационном исследовании А.В.Тихонова впервые проведён анализ гидроксиметилирования ДНК метафазных хромосом из половых клеток, зигот, бластомеров и клеток эмбриональных и экстраэмбриональных тканей постимплантационных эмбрионов человека. Установлено, что на стадии зиготы метафазные хромосомы отцовского происхождения подвергаются активному

деметиляции с образованием 5-гидроксиметилцитозина в большей степени, чем метафазные хромосомы материнского происхождения. Гидроксиметилированная ДНК распределена неравномерно в метафазных хромосомах зигот человека: 5-гидроксиметилцитозин преимущественно локализован в R-, но не G- и C-сегментах. При делениях дробления 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. Впервые установлена связь между параметрами спермограммы и характером гидроксиметилирования сперматозоидов в эякуляте: увеличение доли гидроксиметилированных сперматозоидов ассоциировано со снижением качества эякулята и нарушениями фертильности.

Результаты настоящей работы вносят вклад в понимание механизмов эпигенетической регуляции и организации работы генома в онтогенезе человека. Описанные изменения гидроксиметилирования ДНК в половых клетках, в доимплантационных и постимплантационных эмбрионах позволяют приблизиться к пониманию биологической роли 5-гидроксиметилцитозина в процессах репрограммирования генома человека в онтогенезе.

Полученные результаты важны для разработки и совершенствования методов оценки функционального состояния генома. Оценка характера гидроксиметилирования мужских гамет может стать новым информативным критерием качества эякулята, что будет иметь существенное значение для повышения эффективности вспомогательных репродуктивных технологий.

В настоящем исследовании использован комплексный подход с применением цитогенетических, молекулярно-цитогенетических, гистологических и иммунофлуоресцентных методов, флуоресцентной микроскопии и ряда статистических методов.

Данные, составляющие основу диссертации, получены и обработаны автором лично. Название диссертации, сформулированные автором выводы и положения, выносимые на защиту, соответствуют основным результатам, полученным в диссертационной работе. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации. По оформлению рукописи, использованным методам, охвату изложения данных в обзоре литературы и собственных результатов, их новизне, теоретическому и практическому значению, их обсуждению представленная работа отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, и может быть рекомендована к защите. Диссертационная работа Тихонова А.В. «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека» соответствует специальности 03.02.07 – «генетика» и профилю Диссертационного совета Д 212.232.12.

Основные материалы диссертации изложены в 18 печатных работах, в том числе в 7 статьях в журналах, рекомендованных ВАК:

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. doi: 10.18632/oncotarget.18331.

Для рассмотрения диссертации, как самостоятельной научно-квалифицированной работы, текст диссертации прошел проверку в системе Blackboard на предмет выявления объема текстовых совпадений между текстом диссертации и источниками, авторство которых установлено. Текстовых совпадений – 6%. Использование в диссертации А.В.Тихонова источников заимствования обозначено ссылками автора на них. Диссертация А.В.Тихонова может считаться оригинальной авторской работой.

Экспертная комиссия рекомендует Диссертационному совету:

1. принять к защите на Диссертационном совете Д 212.232.12 кандидатскую диссертацию Тихонова Андрея Владимировича на тему «Хромосомная, клеточная и тканевая специфичность гидроксиметилирования ДНК в проэмбриональный и эмбриональный периоды развития человека» по специальности 03.02.07 – генетика;

2. утвердить официальными оппонентами:

- доктора биологических наук (специальность 03.02.07 – генетика), доцента, ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К.Эрнста»  
Козикову Ларису Васильевну;

- кандидата биологических наук (специальность 03.03.01 – физиология), доцента,  
старшего научного сотрудника Лаборатории морфологии клетки Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской  
академии наук Боголюбову Ирину Олеговну;

3. утвердить в качестве ведущей организации Федеральное государственное  
бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины».

Председатель экспертной комиссии:

доктор биологических наук  
(специальность 03.03.05), профессор



Гагинская Е.Р.

Члены комиссии:

доктор биологических наук  
(специальность 03.02.07), профессор



Смирнов А.Ф.

доктор биологических наук, старший научный сотрудник  
(специальности 03.02.07 и 03.03.05)



Мамон Л.А.