

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01

НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____

Дата защиты 21 июня 2017 г. протокол № 12

О присуждении **Лисачеву Артему Павловичу**

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Сравнительный анализ структуры, синапсиса и рекомбинации половых хромосом разного эволюционного возраста у позвоночных» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 31.03.2017, протокол № 9, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Лисачев Артем Павлович, 1991 года рождения. В 2013 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск.

С 07.07.2013 г. по 08.07.2016 г. Лисачев А. П. обучался в очной аспирантуре ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, работает в должности младшего

научного сотрудника в лаборатории рекомбинационного и сегрегационного анализа Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории рекомбинационного и сегрегационного анализа Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель: **Бородин Павел Михайлович** – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией рекомбинационного и сегрегационного анализа Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

- 1. Бугров Александр Геннадьевич** – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории филогении и фауногенеза Института Систематики и Экологии Животных СО РАН, г. Новосибирск.
- 2. Галкина Светлана Анатольевна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник Кафедры генетики и биотехнологии биологического факультета СПбГУ, г. Санкт-Петербург.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва в своем положительном заключении, подписанном заведующей лабораторией цитогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, д.б.н.,

профессором О. Л. Коломиец, и утвержденном д.б.н., профессором, ВРИО директора Института С.К. Абилевым указано, что «новизна и научная значимость полученных автором результатов, их глубокое теоретическое осмысление, позволили автору установить новые закономерности в процессах дивергенции половых хромосом, и особенностей эволюции их синапсиса и рекомбинации. По существу, диссертационное исследование А. П. Лисачева знаменует новый этап в развитии фундаментальных представлений о дивергенции между половыми хромосомами на ранних этапах эволюции позвоночных и эволюции особенностей синапсиса и рекомбинации между ними в профазе I мейоза. В целом, работа Артема Павловича Лисачева полностью соответствует всем критериям (пп. 9-14) «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Лисачев Артем Павлович, несомненно, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04. – «Клеточная биология, цитология, гистология». Отзыв обсужден и одобрен на заседании лаборатории цитогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН протокол №5 от 5 июня 2017 года».

Соискатель имеет всего 13 публикаций из них 11 опубликованных работ по теме диссертации, общим объемом 58 страниц, в том числе 7 статей, опубликованных в научных рецензируемых изданиях и 4 тезиса в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. **Lisachov A. P.** New method for visualization of C-heterochromatin in synaptonemal complex spreads // Comparative Cytogenetics. 2013. V. 7. I. 2. P. 131-138. (IF=1,519 WoS, Scopus, РИНЦ)

2. **Lisachov A. P.**, Zadesenets K. S., Rubtsov N. B., Borodin P. M. Sex chromosome synapsis and recombination in male guppies // *Zebrafish*. 2015. V. 12. I. 2. P. 174-180. (IF=2,175 WoS, Scopus, РИНЦ)
3. **Lisachov A. P.**, Trifonov V. A., Giovannotti M., Ferguson-Smith M. A., Borodin P. M. Heteromorphism of “homomorphic” sex chromosomes in two anole species (Squamata, Dactyloidae) revealed by synaptonemal complex analysis // *Cytogenetic and Genome Research*. 2017. doi: 10.1159/000460829 (IF=1,638 WoS, Scopus, РИНЦ)
4. **Lisachov A. P.**, Trifonov V. A., Giovannotti M., Ferguson-Smith M. A., Borodin P. M. Immunocytological analysis of meiotic recombination in two anole lizards (Squamata, Dactyloidae) // *Comparative Cytogenetics*. 2017. V. 11. I. 1. P. 129-141. (IF=1,519 WoS, Scopus, РИНЦ)
5. **Лисачев А. П.**, Малиновская Л. П., Бородин П. М., Друзяка А. В., Торгашева А. А. Синапсис и рекомбинация аутосом и половых хромосом у двух видов крачек (Sternidae, Charadriiformes, Aves) // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017. V. 21. I. 2. P. 259-268. (IF=0,333 Scopus, РИНЦ)

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзывов, все положительные.

Отзывы прислали:

1. Стегний В. Н., д.б.н., зав. кафедрой цитологии и генетики Томского государственного университета, г. Томск
2. Картавцева И.В., д.б.н., г.н.с. лаборатории эволюционной зоологии и генетики ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток
3. Булатова Н.Ш., к.б.н., с.н.с. лаборатории микроэволюции млекопитающих ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, г. Москва
4. Симановский С.А., к.б.н., м.н.с. лаборатории экологического мониторинга регионов АЭС и биоиндикации ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, г. Москва

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области сравнительной и эволюционной цитогенетики, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтов в нашей стране по изучению структуры и функции хромосом.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных автором исследований доказано, что половые хромосомы гуппи (комплекс *Poecilia reticulata*), игуановых ящериц семейства анолисов (*Dactyloidae*) и птиц семейства крачек (*Sternidae*), имеющие разную степень взаимной эволюционной дифференцировки, отличаются особенностями строения, синапсиса и рекомбинации.

Предложена модель последовательного уменьшения точности синаптической подгонки районов половых хромосом у гетерогаметного пола при увеличении степени их дивергенции, и изменения паттернов рекомбинации в пределах псевдоаутосомных районов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые изучены закономерности синапсиса и рекомбинации у носителей половых хромосом разного эволюционного возраста: рыб (10-15 млн. лет), рептилий (70-90 млн. лет) и птиц (100-120 млн. лет). **Доказано, что** увеличением эволюционного возраста половых хромосом степень компенсации нарушений синапсиса, возникающих в ранней пахитене, уменьшается, районы рекомбинации сокращаются до одного небольшого сегмента в дистальном районе хромосом, рекомбинационная граница становятся четче, а интенсивность рекомбинации увеличивается.

Раскрыты и устранены противоречия в существующих моделях организации и мейотического поведения половых хромосом гуппи и анолисов. **Доказано, что** в противовес ранее принятой модели, синапсис половых X- и Y-хромосом гуппи, как и их аутосом, начинается в дистальном районе, где

выявлено подавляющее большинство сайтов кроссинговера. **Доказано**, что у анолисов половые хромосомы, ранее считавшиеся гомоморфными, в профазе I мейоза (на ранних стадиях синапсиса) различаются и по размеру, и по морфологии.

Впервые **изучена** организация половых хромосом у птиц семейства Sternidae. **Доказано**, что Z и W половые хромосомы крачек значительно различаются по размеру и центромерному индексу, а псевдоаутосомный район занимает короткий дистальный сегмент на p-плече W-хромосомы.

Показано, что на половых хромосомах крачек даже при полной синаптической подгонке не происходит выравнивания центромер, несмотря на гомологию центромерных сателлитных последовательностей.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработана новая модификация метода идентификации AT-богатого C-гетерохроматина при помощи окрашивания красителем DAPI, предназначенная для пахитенных хромосом и комбинируемая с иммуофлуоресцентным окрашиванием синаптонемных комплексов, которая может быть использована в цитогенетических исследованиях особенностей мейоза, как в медицинской практике, так и у сельскохозяйственных животных.

Полученные теоретические знания представляют интерес для научно-исследовательских учреждений биологического профиля, изучающих процессы видообразования и эволюции эукариот, и используются при чтении курса «Эволюционное учение» студентам 3 курса биологического отделения факультета естественных наук Новосибирского государственного университета.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы как традиционные современные молекулярно-цитологические методы (иммуофлуоресцентная и электронная микроскопия, FISH с сортированными хромосом-специфичными и полногеномными пробами, ПЦР), так и авторские модификации существующих методов, что позволило

провести анализ локализации белков SYCP3, CENP и MLH1, вовлеченных в организацию структуры мейотических хромосом, их синапсис и рекомбинацию.

Оценка достоверности результатов исследования выявила высокую воспроизводимость полученных данных и наличие всех необходимых экспериментальных контролей. В работе использованы методики цитогенетического и молекулярно-цитогенетического анализа пахитенных хромосом и синаптонемных комплексов, адекватные поставленным задачам. Результаты экспериментальных этапов работы получены с использованием современного сертифицированного оборудования для флуоресцентной и электронной микроскопии, ПЦР и FISH, на высококачественных реактивах и могут быть использованы другими исследователями. Интерпретация результатов исследования синапсиса и рекомбинации половых хромосом, различающихся по эволюционному возрасту, **учитывает данные, полученные ранее другими исследователями**, по рассматриваемой тематике.

Личный вклад соискателя состоит в теоретическом планировании исследований, подборе оптимальных модельных видов, отлове экспериментальных животных, проведении всех этапов экспериментальной работы (приготовлении препаратов, распластанных синаптонемных комплексов, их окрашивании, синтезе и мечении полногеномой пробы ДНК гуппи, проведении флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и регистрации микроскопических изображений), их обработке и интерпретации, а также подготовке публикаций.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют заявленной специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и соответствуют п. 4. «Сравнительно-эволюционное изучение тканевых элементов в связи с проблемой происхождения и филогенетического развития тканей» и п. 6. «Молекулярные, иммунологические и физиологические аспекты изучения клеток многоклеточных, малоклеточных

и одноклеточных организмов в норме и патологии» паспорта специальностей 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует требованиям п. 9, абзац 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 21 июня 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Лисачеву Артему Павловичу учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 7 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 22, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета,
академик РАН



V.K. Shumnyy
В.К. Шумный

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

T.M. Khlebodarova

Т.М. Хлебодарова
21.06.2017 г.