



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук

119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3
Тел.: 499 135-62-13 (дирекция), 499 135-20-41 (канцелярия)
E-mail: iogen@vigg.ru
Факс: 499 132-89-62
Internet: www.vigg.ru

19.03.2014 № 12504-01-9311/114

На
№ _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской
академии наук
Чл-корр. РАН _____ **Н.К. Янковский**



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Васьковой Евгении Андреевны
«МОДИФИКАЦИИ ХРОМАТИНА ПРИ ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ У
ГРЫЗУНОВ», представленную на соискание учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Инактивация X-хромосомы у самок млекопитающих является классическим объектом эпигенетики, уже более 50 лет привлекая внимание исследователей уникальным механизмом регуляции генной экспрессии на уровне целой хромосомы. Несмотря на долгую историю изучения, механизм инактивации X-хромосомы остаётся ещё не полностью расшифрованным. Это связано с множественностью уровней процесса инактивации, высокой скоростью эпигенетических изменений, крайней устойчивостью инактивированного состояния X-хромосомы в соматических клетках, эволюционной пластичностью механизма инактивации. Интерес к этой теме приводит к постоянному росту числа публикаций, посвящённых механизму дозовой компенсации. Значительно реже в поле внимания исследователей попадет другой феномен полнохромосомного транскрипционного молчания, который наблюдается на стадии мейоза в половом хроматине. Оригинальность диссертации Евгении Андреевны Васьковой состоит в том,

что в ней цитогенетически охарактеризовано распределение различных модификаций гистонов по транскрипционно неактивным X-хромосомам не только в соматических, но и в мейотических клетках, а также в клетках экстраэмбриональных тканей различной степени дифференцировки. Таким образом, в работе Евгении Андреевны проведено сравнение трёх различных неактивных состояний X-хромосомы, а именно: наблюдаемой при мейотической, импринтированной и случайной инактивации. Кроме того, оригинальность диссертации Евгении Андреевны состоит ещё и в том, что среди объектов изучения — такой неканонический вид, как обыкновенная полёвка, а также крыса, нечасто встречающаяся в эпигенетических исследованиях. Следует признать, что диссертационная работа Евгении Андреевны Васьковой является актуальной, обладает научной оригинальностью и значимостью, она отличается комплексным подходом в решении поставленной проблемы.

Диссертация состоит из 89 страниц, она написана по общепринятому плану и включает введение, обзор литературы, главу с описанием использованных методов, главу, в которой излагаются результаты совместно с их обсуждением. Диссертация завершается небольшой заключительной частью. По результатам сформулированы пять основных выводов. В конце диссертации приведён список литературы, включающий 139 источников. Диссертация содержит 2 таблицы и иллюстрирована 16 рисунками.

Во введении обоснована актуальность избранной темы, сформулирована цель и задачи работы, дана характеристика научной новизны и теоретической значимости исследования.

Примерно треть диссертации составляет обзор литературы по тематике работы, завершающийся небольшой заключительной частью, где вновь подчёркивается научная новизна и оригинальность собственного исследования. Обзор литературы хорошо написан, логично выстроен, уместно иллюстрирован и даёт разностороннее представление о современном состоянии проблемы. В обзоре подробно описаны наблюдаемые у млекопитающих формы полнохромосомной транскрипционной инактивации, изложены сведения о типах факультативного хроматина, о механизмах, вовлечённых в процесс мейотической, импринтированной и случайной инактивации X-хромосомы. В конце обзора рассмотрены аргументы «за» и «против» для гипотезы о мейотической инактивации X-хромосомы в сперматогенезе как предпосылке к её импринтированной

инактивации у самок. Этот обзор планомерно подводит читателя к постановке экспериментальных задач.

В главе «Результаты и их обсуждение» автор последовательно описывает и обсуждает полученные им результаты. Автору удалось показать, что спектр модификаций гистонов, наблюдаемых на инактивированной X-хромосоме при мейотической и импринтированной инактивации у полёвки, сходен с теми, которые наблюдали другие авторы у других видов плацентарных, что может говорить о консервативности связанных механизмов. Помимо консервативных паттернов удалось установить и видоспецифичные особенности при инактивации X-хромосом на разных этапах жизненного цикла грызунов. Важным наблюдением является описание динамики изменений хроматина X-хромосомы при дифференцировке стволовых клеток трофобласта у грызунов, при этом впервые обнаружен в стволовых клетках трофобласта мыши набор модификаций гистонов, характерный для Xist-независимой инактивации.

Центральное место в демонстрации результатов диссертации занимают иллюстрации иммуноцитохимического окрашивания клеток и метафазных пластинок. При высоком качестве самих изображений, к сожалению, следует отметить, что на всех микрофотографиях отсутствует масштабная шкала. В некоторых случаях двойного иммуноцитохимического окрашивания хромосом было бы полезно иметь рисунок с профилем распределения цветов вдоль хромосомы.

Полученная линия трофобластных стволовых клеток полёвки охарактеризована морфологически и по экспрессии ключевых факторов транскрипции, что кажется недостаточным. Для полной характеристики такой линии нужно иммуноцитохимическое окрашивание на маркерные белки до и после дифференцировки. Результаты гелеэлектрофореза продуктов ОТ-ПЦР при анализе экспрессии транскрипционных факторов представлены в виде вырезанных фрагментов, что не позволяет убедиться в правильности определения длин выявляемых фрагментов.

Сделанные замечания не принципиальны и не снижают общей высокой оценки работы. Автором получены новые ценные экспериментальные данные, которые имеют важное научное значение и могут быть использованы целым рядом научных академических организаций, например, ИОГен РАН, ЦИН РАН, ИБР РАН.

Результаты работы опубликованы в рецензируемом международном журнале «Plos One», неоднократно доложены на международных и российских конференциях по теме диссертации. Помимо этого, Евгения Андреевна является соавтором обзора, опубликованного в журнале «Генетика» и недавно вышедшей коллективной монографии «Эпигенетика» издательства СО РАН. Экспериментальная статья и тезисы говорят об авторском вкладе в проведенные исследования, полностью отражают содержание диссертации, а выводы соответствуют полученным данным. Автореферат отражает содержание диссертации и соответствует материалам, изложенным в диссертационной работе.

Все вышеизложенное позволяет констатировать, что диссертация Евгении Андреевны Васьковой, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является законченным самостоятельным научным исследованием и представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует требованиям п.9 абзац 2 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика. Рекомендуем присудить Евгении Андреевне Васьковой степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика. Отзыв заслушан и одобрен на семинаре лаборатории генетики развития ИОГен РАН 14 марта 2014 года.

А. Н. Богомазова, к.б.н.,
с.н.с., ИОГен им. Н. И. Вавилова РАН

М. А. Лагарькова, д.б.н.
Зав. лабораторией генетики развития
ИОГен им. Н. И. Вавилова РАН



Лагарькова О.А.