

УТВЕРЖДАЮ:

Директор

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской Академии Наук



Кудрявцев А.М.

«14» 12. 2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской Академии Наук

Диссертация «Вариабельность эпигенетического состояния инактивированной X-хромосомы в женских плюрипотентных стволовых клетках человека *in vitro*» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук (Москва). В период подготовки диссертации соискатель Панова Александра Витальевна работала в должности м.н.с. в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук в лаборатории эпигенетики с ноября 2013 года по настоящее время. В 2010 г. Панова Александра Витальевна окончила Федеральное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», биологический факультет, кафедру генетики по специальности «Генетика». Для подготовки

диссертации на соискание учёной степени кандидата наук и сдачи кандидатских экзаменов, с 2010 г. по 2015 г. соискатель обучалась в аспирантуре Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук. Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2017 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтom общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук. Научный руководитель диссертационной работы – Киселёв Сергей Львович, д.б.н., профессор, заведующей лабораторией эпигенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук.

По итогам рассмотрения диссертации «Вариабельность эпигенетического состояния инактивированной X-хромосомы в женских плюрипотентных стволовых клетках человека *in vitro*» принято следующее заключение:

Актуальность исследования

Плюрипотентные стволовые клетки являются уникальным объектом для изучения эпигенетических механизмов раннего эмбрионального развития и регуляции работы генов. Представленная диссертационная работа посвящена изучению эпигенетических процессов плюрипотентного состояния клеток человека на примере процессов, происходящих при инактивации X-хромосомы в женских плюрипотентных стволовых клетках человека. Наличие дозовой компенсации в женских клетках млекопитающих дают возможность изучения эпигенетических процессов: на ранних этапах эмбрионального развития происходит каскад событий, приводящих к гетерохроматинизации одной из X-хромосом в соматических клетках. В соматических клетках одна из X-хромосом инактивирован, а в плюрипотентном состоянии клетка может нести 2 активные X-хромосомы.

Механизмы инактивации X-хромосомы, связь плюрипотентного состояния с регуляцией активности X-хромосомы и многие другие аспекты в основном изучали на мышинных моделях, поэтому многие эпигенетические процессы, происходящие при инактивации X-хромосомы на ранних этапах развития у человека, до сих пор остаются невыясненными.

Научная новизна и практическая значимость исследования

В работе впервые показано, что время репликации участков X-хромосомы отражает районы реактивации и может являться маркером состояния X-хромосомы в плюрипотентных стволовых клетках человека. Впервые показано, что распределение модификации ДНК 5-гмЦ коррелирует с эухроматиновыми районами и участками ранней репликации и может служить маркером состояния X-хромосомы в плюрипотентных стволовых клетках человека. Показано, что степень компактизации территории X-хромосомы в интерфазном ядре не коррелирует с состоянием инактивации X-хромосомы в плюрипотентных стволовых клетках человека. Показано при изучении 5 линии эмбриональных стволовых клеток человека и 3 линий клеток человека с индуцированной плюрипотентностью, что эпигенетическое репрограммирование до наивного состояния не приводит к полной реактивации X-хромосомы, при этом происходят значительные эпигенетические изменения X-хромосомы.

Результаты данного исследования вносят вклад в понимание эпигенетических механизмов регуляции состояния X-хромосомы в плюрипотентных стволовых клетках человека, дают возможность более точно характеризовать статус X-хромосомы, что может быть актуальной задачей при моделировании X-сцепленных заболеваний на основе ИПСК, где необходима точная характеристика эпигенетического состояния X-хромосомы как в ИПСК, так и после дифференцировки в соответствующий

тип ткани. Практическая ценность работы заключается в разработке условий культивирования ПСК человека в наивных условиях, определяющих, приближающих клетки *in vitro* к их природному аналогу *in vivo*.

Степень достоверности результатов проведённых исследований

Диссертационная работа является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на очень высоком методическом уровне, с использованием современных молекулярно-генетических методов. Результаты, полученные в работе достоверны и воспроизводимы.

Соответствие диссертационной работы избранной специальности

Диссертационная работа соискателя Пановой А.В. соответствует избранной специальности 03.02.07 – генетика (согласно п.п.2, 12, 14, 17 Паспорта номенклатуры специальностей научных работников по данной специальности).

Личный вклад соискателя

Все основные результаты были получены лично автором, либо при его участии в планировании и проведении экспериментов. Культивирование клеточных линий, эксперименты по иммуногистохимическому окрашиванию, флуоресцентной гибридизации *in situ* и детекции времени репликации проводилась совместно с сотрудниками лаборатории.

Полнота изложения материалов диссертации в печатных работах

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 3 статьи в журналах, соответствующих Перечню ВАК, 5 тезисов докладов и материалов конференций. Основные результаты диссертации были представлены на российских и международных конференциях: Chromatin, Replication and Chromosomal Stability (Copenhagen, 2013), The 7th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences, (Osaka, 2014), VI съезде ВОГиС (Ростов-на-Дону, 2014), International Society for Stem Cell Research

(ISSCR) Annual Meeting (Stockholm, 2015), III Национальный Конгресс по Регенеративной Медицине (Москва, 2017).

Диссертация Пановой Александры Витальевны «Вариабельность эпигенетического состояния инактивированной X-хромосомы в женских плюрипотентных стволовых клетках человека *in vitro*» полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертационным работам. Работа рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Заключение принято на заседании межлабораторного семинара Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук.

Присутствовало на заседании 12 человек, в том числе 4 доктора биологических наук. Результаты голосования: «за» - 12 человек, «против» - 0 человек, «воздержалось» - 0 человек.

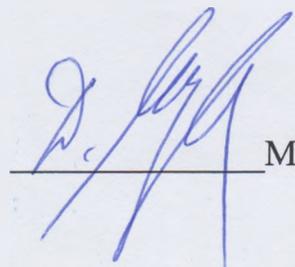
Протокол № 10 от 14 декабря 2017 г.

Председатель заседания:

Зав. лаборатории генетических основ биоразнообразия

ИОГен РАН

д.б.н., проф.



Муха Д.В.