

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 14 февраля 2018 г. протокол № 4

О присуждении **Арковой Ольге Владимировне**

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярные механизмы гибели клеток в сетчатке крыс при старении и развитии ретинопатии» по специальности 03.02.07 – «генетика» принята к защите 25.10.2017, протокол № 33 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, 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: Аркова Ольга Владимировна, 1979 года рождения. В 2012 году Аркова О.В. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск.

Приказом № 417 от 23.12.2015 г. Аркова О.В. была прикреплена к ИЦиГ СО РАН для подготовки диссертации. Приказом № 134 от 25.05.2015 г. Аркова О.В. была зачислена в аспирантуру ИЦиГ СО РАН в качестве экстерна для сдачи кандидатских экзаменов на срок с 20.05.2015 – 25.10.2015 г.г.

С июня 2010г. по настоящее время Аркова О.В. работает в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», в настоящее время в должности ведущего инженера в секторе молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий.

Диссертация выполнена в секторе молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель: Савинкова Людмила Кузьминична - кандидат биологических наук, заведующий сектором молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Гуляева Людмила Федоровна** - доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией молекулярных механизмов канцерогенеза, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск.

2. Рыкова Елена Юрьевна – доктор биологических наук, с.н.с. лаборатории молекулярной медицины, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Кольцово, Новосибирская область, в своем положительном заключении, подписанном кандидатом биологических наук Колосовым А.В., заведующим сектором отдела биофизики и экологических исследований и утвержденном Генеральным директором ФБУН ГНЦ «Вектор» Роспотребнадзора, доктором биологических наук Максютковым Р.А. указала, что «...диссертационная работа Арковой Ольги Владимировны является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи анализа неаннотированных SNPs ТАТА-боксов, имеющей существенное научное значение для генетики человека, молекулярной медицины и биологии, что может внести важный вклад в интенсивно развивающееся направление персонализированной медицины. По общему содержанию представленного материала, актуальности, новизне полученных данных диссертационная работа Арковой Ольги Владимировны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24. 09. 2013г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени — кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 — генетика. Отзыв обсужден и принят на заседании Ученого совета Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии

«Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Протокол № 15 от 29 декабря 2017 г.).»

Соискатель имеет 15 опубликованных работ, из них 14 по теме диссертации (общим объемом 103 страниц): 10 статей в научных рецензируемых журналах (их них 9 входят в международные базы цитирования Scopus, WoS) и 4 тезиса в материалах всероссийских конференций с международным участием.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. **Arkova O**, Kuznetsov N, Fedorova O, Savinkova L. A real-time study of the interaction of TBP with a TATA box-containing duplex identical to an ancestral or minor allele of human gene LEP or TPI. J Biomol Struct Dyn. 2017;35(14):3070-3081. doi: 10.1080/07391102.2016.1241190.

2. **Arkova OV**, Ponomarenko MP, Rasskazov DA, Drachkova IA, Arshinova TV, Ponomarenko PM, Savinkova LK, Kolchanov NA. Obesity-related known and candidate SNP markers can significantly change affinity of TATA-binding protein for human gene promoters.

BMC Genomics. 2015;16 Suppl 13:S5. doi: 10.1186/1471-2164-16-S13-S5.

3. Ponomarenko M, Rasskazov D, **Arkova O**, Ponomarenko P, Suslov V, Savinkova L, Kolchanov N. How to Use SNP_TATA_Comparator to Find a Significant Change in Gene Expression Caused by the Regulatory SNP of This Gene's Promoter via a Change in Affinity of the TATA-Binding Protein for This Promoter. Biomed Res Int. 2015;2015:359835. doi: 10.1155/2015/359835.

4. **Arkova OV**, Kuznetsov NA, Fedorova OS, Kolchanov NA, Savinkova LK. Real-Time Interaction between TBP and the TATA Box of the Human Triosephosphate Isomerase Gene Promoter in the Norm and Pathology. Acta Naturae. 2014;6(2):36-40.

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов, все положительные.
Отзывы прислали:

1. Пономаренко Е.А. - к.б.н., заведующий Лабораторией анализа постгеномных данных Отдела биоинформатики Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича. (Москва).
2. Беклемишев А.Б. - д.б.н., руководитель Лаборатории генной инженерии структурного подразделения «Научно-исследовательский институт биохимии» Института экспериментальной и клинической медицины. (Новосибирск).
3. Анакшина А.А. - к.ф.-м.н.-с.н.с. Лаборатории вычислительных методов системной биологии Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (Москва).
4. Орлов Ю.Л. - д.б.н., с.н.с. Лаборатории эволюционной биоинформатики и теоретической генетики Института цитологии и генетики СО РАН. (Новосибирск).
5. Меньщикова Е.Б. - д.б.н., руководитель Лаборатории молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов Института экспериментальной и клинической медицины. (Новосибирск).
6. Стефанова Н.А. - д.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярных механизмов старения ФИЦ института цитологии и генетики СО РАН. (Новосибирск).
7. Кулаковский И.В. - к. ф.-м.н. н.с. Лаборатории прикладной математики Института математических проблем биологии РАН, филиала ФГУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, (Москва, Пущино).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики, молекулярной медицины и генетики, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одной из ведущих организаций в нашей стране по фундаментальным научным исследованиям в области молекулярной биологии, генной инженерии и биотехнологии, а также по

анализу молекулярно-генетических процессов методами биоинформатики и системной биологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **доказана** эффективность использования Web сервиса SNP_TATA_Comparator, разработанного в ФЦ ИЦиГ СО РАН, для выявления потенциальных, функционально значимых однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в TATA-боксах промоторов генов. Доказательства основаны на выявленной корреляции между сродством SNP-содержащих TATA-боксов генов липидного метаболизма человека к TATA-связывающему белку и уровнем экспрессии репортерного гена, находящегося под управлением SNP-содержащего промотора, в культурах клеток человека.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые изучено влияние SNP в TATA-боксах генов липидного метаболизма человека (лептина, глюкагона, триозофосфатизомеразы, АТФ-связывающей кассеты) на сродство к TATA-связывающему белку и уровень экспрессии репортерного гена люциферазы (*Luc*) в клеточных линиях человека. Показано, что замены в TATA-боксах изучаемых генов человека одинаковым образом влияют и на сродство к TATA-связывающему белку, и на экспрессию репортерного гена в культурах клеток человека. Коэффициент корреляции, r , равен 0.89.

Впервые в режиме реального времени **изучен** механизм осуществления мутационных изменений TATA-боксов в промоторах генов липидного метаболизма человека. **Доказано**, что этот механизм заключается в изменении времени жизни комплексов TATA-боксов с TATA-связывающим белком. Показано, что образование комплексов может происходить как по прямому, так и по разветвленному пути, причем количество промежуточных стадий зависит от концентрации TATA-связывающего белка и длины олигонуклеотидов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что представлены доказательства

эффективности использования Web сервиса SNP_TATA_Comparator для предсказания замен в TATA-боксах промоторов генов человека, которые могут иметь клиническую манифестацию. Это позволяет рекомендовать Web сервис SNP_TATA_Comparator для использования практикующими врачами в предиктивно-превентивной персонализированной медицине, в частности, для доклинической проверки влияния однонуклеотидных замен в TATA-боксах на их возможную клиническую манифестацию перед назначением лечения, что значительно сократит время постановки точного диагноза и стоимость лечения. Полученные результаты также могут быть использованы в научно-исследовательских и медицинских учреждениях, занимающихся изучением наследственных патологий человека, в том числе, связанных с мутациями в промоторных районах генов.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы генной инженерии для получения рекомбинантного TATA-связывающего белка, трансфекции ДНК, методы биофизической биологии (Ферстеровского резонансного переноса энергии (FRET), и остановленной струи) для изучения структурных изменений в промоторной ДНК при взаимодействии с белком в реальном времени, методы молекулярной биологии для оценки влияния однонуклеотидных замен TATA-боксов на образование комплексов с TATA-связывающим белком в стационарном состоянии, биоинформационные методы для оценки эффективности влияния замен в TATA-боксах на экспрессию репортерного гена и корреляции экспериментальных данных с прогнозами.

Оценка достоверности результатов исследования выявила высокую воспроизводимость полученных результатов и наличие всех необходимых контролей к проводимым экспериментам. Для получения результатов в работе использованы методики молекулярно-генетической, биохимической и биофизической биологии с использованием современного сертифицированного оборудования. При обсуждении результатов влияния

однонуклеотидных замен ТАТА-боксов на экспрессию репортерного гена в культурах клеток человека учитывались данные, полученные другими исследователями.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, обсуждении полученных результатов, представлении материалов на конференциях и подготовке публикаций. Основные результаты получены автором самостоятельно. Биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей проводился совместно с к.б.н. М.П. Пономаренко. Оценка взаимодействия ТАТА-связывающего белка с ТАТА-боксами с помощью FRET в режиме реального времени проводилась совместно с к.х.н. Н.А. Кузнецовым. Плазмидные конструкции получены совместно с Е.Б. Шарыповой. Результаты по влиянию плазмидных конструкций на активность репортерного гена *Luc* в культурах клеток получены Е.В. Кашиной.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 4 «Мутационная изменчивость. Радиационный и химический мутагенез. Геномные и хромосомные перестройки. Полиплоидия и анеуплоидия. Модификационная изменчивость. Импринтинг.», п. 7. «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Роль геномных перестроек в реализации генного действия. Взаимодействие генов.», п. 10. «Генетическая и клеточная инженерия. Трансгенные организмы» и п. 17. «Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни» паспорта специальности 03.02.07 – генетика.

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

На заседании 14 февраля года диссертационный совет принял решение присудить Арковой Ольге Владимировне учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 7 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета
академик РАН



В.К. Шумный

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова