

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 2 декабря 2020г. протокол №22

О присуждении Клепиковой Анне Владимировне
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационная работа **Клепиковой Анны Владимировны** «Создание и анализ транскриптомных карт *Arabidopsis thaliana* и *Capsella bursa-pastoris*», представляемая на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 – генетика и 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, принята к защите 30.09.2019 года, протокол №18, Диссертационным советом Д003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. акад. 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: Клепикова Анна Владимировна, 1989 года рождения. В 2011 году окончила Федеральное государственное бюджетное

образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва.

С 01.10.2011 г. по 01.10.2014 г. обучалась в очной аспирантуре биологического факультета МГУ им. Ломоносова, г. Москва, в настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории геномики растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук».

Диссертационная работа **Клепиковой А.В.** выполнена в лаборатории геномики растений ФГБУН «Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук».

Научный руководитель:

1. **Пенин Алексей Александрович** к.б.н., зав. лабораторией геномики растений ФГБУН «Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук», г. Москва.

Официальные оппоненты:

1. **Голденкова-Павлова Ирина Васильевна** д.б.н., руководитель группы функциональной геномики ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН», г. Москва
2. **Землянская Елена Васильевна** к.б.н., старший научный сотрудник сектора системной биологии морфогенеза растений ФГБНУ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург. В своём положительном заключении, подписанном профессором кафедры генетики и биотехнологии д. б. н. Матвеевой Т.В. и утверждённом проректором по научной работе Санкт-Петербургского государственного университета к. ф-м. н. Микушевым С.В., указало, что «представленная работа по своей актуальности, научной значимости и новизне полученных результатов соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор, Клепикова Анна Владимировна, заслуживает присуждения ей искомой степени по специальности заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по специальностям 03.02.07 – генетика и 01.03.09 – математическая биология, биоинформатика. Отзыв на диссертацию и автореферат заслушан, обсуждён и утверждён на заседании кафедры генетики и биотехнологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (16.11.2020, Протокол № 58).

Клепикова А.В. – автор 22 публикаций, из них по теме диссертации 12 (общим объемом 85 страниц): 5 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК (журналы баз данных Web of Science и Scopus), а также 7 тезисов международных российских и зарубежных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1) Klepikova AV, Logacheva MD, Dmitriev SE, Penin AA. RNA-seq analysis of an apical meristem time series reveals a critical point in *Arabidopsis thaliana*

flower initiation. BMC Genomics. 2015 Jun 18;16:466. doi: 10.1186/s12864-015-1688-9. PubMed PMID: 26084880; PubMed Central PMCID: PMC4470339. (Web of Science, IF = 3,59)

2) Klepikova AV, Kasianov AS, Gerasimov ES, Logacheva MD, Penin AA. A high resolution map of the Arabidopsis thaliana developmental transcriptome based on RNA-seq profiling. Plant J. 2016 Dec;88(6):1058-1070. doi: 10.1111/tpj.13312. PubMed PMID: 27549386. (Web of Science, IF = 6,14)

3) Kasianov AS*, Klepikova AV*, Kulakovskiy IV, Gerasimov ES, Fedotova AV, Besedina EG, Kondrashov AS, Logacheva MD, Penin AA. High-quality genome assembly of Capsella bursa-pastoris reveals asymmetry of regulatory elements at early stages of polyploid genome evolution. Plant J. 2017 Jul;91(2):278-291. doi: 10.1111/tpj.13563. PubMed PMID: 28387959. (Web of Science, IF = 6,14)

* – equal contribution

4) Klepikova AV, Kulakovskiy IV, Kasianov AS, Logacheva MD, Penin AA. An update to database TraVA: organ-specific cold stress response in Arabidopsis thaliana. BMC Plant Biol. 2019 Feb 15;19(Suppl 1):49. doi: 10.1186/s12870-019-1636-y. PMID: 30813912. (Web of Science, IF = 3.49)

5) Klepikova AV, Penin AA. Gene Expression Maps in Plants: Current State and Prospects. Plants (Basel). 2019 Aug 28;8(9). pii: E309. doi: 10.3390/plants8090309. Review. PMID: 31466308. (Web of Science, IF = 2.76)

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов, все положительные.
Отзывы прислали:

1. Гусев О.А. – к.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории экстремальной биологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета (г. Казань).

2. Миронова В.В. – к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий сектором «Сектор системной биологии морфогенеза растений» Института цитологии и генетики СО РАН. (г. Новосибирск).
3. Пономаренко М.П. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории эволюционной биоинформатики и теоретической генетики Института цитологии и генетики СО РАН. (г. Новосибирск).
4. Соколов Д.Д. – член-корр. РАН, д.б.н., заведующий кафедрой высших растений биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (г. Москва).
5. Шеваль Е.В. – д.б.н., заведующий лабораторией ультраструктуры клеточного ядра НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (г. Москва).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что поскольку исследование междисциплинарное, один из официальных оппонентов является более компетентным специалистом в области генетики и транскриптомики растений, а второй – в области математической биологии и биоинформатики, оба имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих институтов в нашей стране по транскриptomике и биологии растений.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказана перспективность использования детализированных транскриптомных карт для анализа онтогенетических, ткане- и органоспецифических механизмов регуляции экспрессии генов на примере растения *Arabidopsis thaliana*, а также ранних этапов эволюции механизмов экспрессии гомеологичных генов у морфологически и эволюционно близкого к *A. thaliana* аллотетраплоида *Capsella bursa-pastoris*.

Предложена оригинальная гипотеза, что синхронизация экспрессии генов в клетках апикальной меристемы побега *A. thaliana*, которая происходит при переходе растения к цветению, связана с изменением длительности клеточного цикла.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что **впервые** с использованием современных методов высокопроизводительного секвенирования РНК **изучены** паттерны экспрессии генов в 79 органах и тканях растения *A. thaliana*. **Показано**, что 98 % белок-кодирующих генов стабильно активны в большинстве органов и тканей *A. thaliana*, среди которых гены из семейств транскрипционных факторов SWI/SNF SWI3, SNF2, SAMTA, DDT и FAR. Для многих генов из семейств MADS, LOB, LIM и MYB показано наличие ткнеспецифической экспрессии.

Изучены паттерны экспрессии генов в апикальной меристеме *A. thaliana* в период перехода растения к цветению. **Впервые показано**, что в этот период существует временной промежуток, когда на фоне относительно постоянного уровня экспрессии генов *FLC* и *LFY*, контролирующих процесс цветения, происходит синхронная активация генов, маркирующих митоз и S-фазу клеточного цикла, включая гены гистонов, *PCNA1/2* и *RPA2/RPA32A*, что свидетельствует о сокращении длительности фаз G₁ и G₂, и, следовательно, увеличении скорости прохождения клеточного цикла.

Изучено действие пониженной температуры (4 °C) в течение 3 и 27 часов на спектр экспрессирующихся генов в ряде органов *A. thaliana*, включая семядоли, гипокотиль, лист, цветки и семена. **Показано**, что ответ на холодовой стресс в органах *A. thaliana* контролируется не только через известные механизмы адаптации растения к гипотермии, обеспечиваемые транскрипционными факторами из семейства CBF, но и специфичным для каждого органа дополнительным набором регуляторов транскрипции, в частности, в семенах и цветке – транскрипционных факторами из семейств bZIP и NAC, а в листе – ERF/AP2.

Изучен эффект полиплоидизации генома *C. bursa-pastoris* на экспрессию гомеологичных генов из субгеномов А и В, происходящих из геномов видов *C. rubella/grandiflora* и *C. orientalis*, соответственно. **Показано**, что у *C. bursa-pastoris* различия в уровне экспрессии гомеологичных генов связаны не с явлением геномного доминирования, а с изменением паттерна экспрессии, обусловленной, по-видимому, возникновением новых сайтов связывания транскрипционных факторов в промоторе одного из гомеологов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что впервые **создан** атлас экспрессии генов *C. bursa-pastoris* и транскриптомная карта *A. thaliana*, вошедшая в число самых крупных атласов экспрессии генов у растений.

Разработана база данных Transcriptome Variation Analysis (TraVA), включающая транскриптомные карты *A. thaliana* и *C. bursa-pastoris*, которая позволяет визуализировать профили экспрессии генов и проводить анализ их дифференциальной экспрессии. База данных TraVA находится в открытом доступе (travadb.org), используется в работе различных научных групп, о чем сообщено более чем в 120 публикациях, а также в образовательном процессе, в частности, в учебном курсе профессора Н. Проварта (Provart N., Канада) «Plant Bioinformatics» на платформе Coursera.

Полученные соискателем знания представляют интерес для научно-исследовательских учреждений, изучающих онтогенетические, ткане- и органоспецифические механизмы регуляции экспрессии генов растений, в том числе в ответ на различные внешние воздействия.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы современные методы культивирования растений, а также методы биоинформатики и математической статистики для анализа и обработки данных. Так, анализ дифференциальной экспрессии генов проводили с помощью расчета энтропии Шеннона, стабильность экспрессии гена определяли по коэффициенту вариации, а для анализа изменений

транскриптома в апикальной меристеме применяли методы кластерного анализа. Для снижения биологической вариабельности образцов использовали собственный метод синхронизации стадий развития растения на основе морфологических маркеров.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность, которая основа на использовании различного набора методов анализа и контроля условий эксперимента. Все экспериментальные исследования, связанные с культивированием растений и отбором образцов для секвенирования, выполнены с применением методов и подходов, снижающих биологическую вариабельность образцов и контролем условий, исключающих воздействие летучих соединений (жасмонатов), способных индуцировать стрессовую реакцию у растений. Используемые биоинформатические программы обработки данных широко применяются в аналогичных исследованиях. Полученные соискателем результаты согласуются с существующими представлениями о транскриптомных характеристиках растений в период цветения и существенно дополняют их. При обсуждении результатов диссертационной работы о влиянии холодового стресса на транскриптомный профиль в органах *A. thaliana* учитывались данные по рассматриваемой тематике, полученные ранее другими исследователями. Результаты получены на сертифицированном оборудовании и могут быть использованы другими исследователями.

Личный вклад автора состоит в сборе образцов для атласов экспрессии генов *A. thaliana* и *C. bursa-pastoris*, анализе транскриптомных данных и их подготовке для размещения в базе TraVA, а также в непосредственном участии в обсуждении полученных результатов, представлении материалов и подготовке их к публикации. Основные результаты получены автором самостоятельно.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют паспорту заявленной специальности 03.02.07 – генетика п. 7. «Реализация генетической

информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Роль геномных перестроек в реализации генного действия. Взаимодействие генов», п.12. «Структурная, функциональная и эволюционная геномика. Генетическая биоинформатика. Геносистематика», и паспорту заявленной специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика – п. 8. «Математические модели, численные методы и программные средства применительно к процессам получения, накопления, обработки и систематизации биологических и медицинских данных и знаний», п. 9. «Организация, ведение и использование автоматизированных банков данных по биологии и медицине, в т.ч. банков междисциплинарных данных. (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация Клепиковой А.В. представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям п.п. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 22 человек (5 принимали участие дистанционно), из них 5 докторов наук по специальности 03.02.07 – генетика и 9 докторов наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 22, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам.председатель
диссертационного совета,
доктор биологических наук
Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Н.Б. Рубцов

Т.М. Хлебодарова

02.12.2020 г.