

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 4 декабря 2019г. протокол № 20

О присуждении Новиковой Дарье Дмитриевне
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационная работа **Новиковой Дарьи Дмитриевны** «Поиск новых чувствительных к ауксину регуляторных элементов в промоторах генов *Arabidopsis thaliana* L.», представляемая на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 – генетика и 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, принята к защите 18.09.2019 года, протокол №15, 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: Новикова Дарья Дмитриевна, 1991 года рождения. В 2015 году окончила Государственное образовательное учреждение высшего

профессионального образования «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск.

С 1.10.2015 г. по 30.09.2019 г. обучалась в очной аспирантуре ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, в настоящее время работает младшим научным сотрудником в секторе биоинформатики и информационных технологий в генетике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Диссертационная работа **Новиковой Д.Д.** выполнена в секторе системной биологии морфогенеза растений ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научные руководители:

1. **Кочетов Алексей Владимирович** Член-корр. РАН, д.б.н., доцент, директор, зав. лабораторией генной инженерии ФГБУН «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», г.Новосибирск.
2. **Миронова Виктория Владимировна** к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий сектором системной биологии морфогенеза растений ФГБУН «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», г.Новосибирск.

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. **Витяев Евгений Евгеньевич** профессор, д.физ.-мат. наук, вед.науч.сотрудник лаборатории теории вычислимости и прикладной логики Института математики им. С.Л. Соболева, г. Новосибирск

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук, г. Москва. В своём положительном заключении, подписанном зав. лабораторией молекулярной генетики дрозофилы д. б. н., профессором РАН Головниным А. К. и утверждённом, чл.-корр. РАН, д.б.н., директором Георгиевым П.Г., указало, что «по актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне, диссертационная работа Новиковой Дарьи Дмитриевны «Поиск новых чувствительных к ауксину регуляторных элементов в промоторах генов *Arabidopsis thaliana* L.» соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 No 842, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 — «генетика» и 01.03.09 — «математическая биология, биоинформатика». Отзыв обсуждён и утверждён на межлабораторном научном семинаре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук (22.10.2019, протокол No 3)».

Новикова Д.Д. — автор 9 публикаций (общим объемом 43 страницы), все по теме диссертации: 3 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих

в перечень ВАК (журналы баз данных Web of Science и Scopus) и 6 тезисов международных российских и зарубежных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. Pavel Cherenkov#, Daria Novikova#, Nadya Omelyanchuk, Victor Levitsky, Ivo Grosse, Dolf Weijers and Victoria Mironova. Diversity of cis-regulatory elements associated with auxin response in *Arabidopsis thaliana* //Journal of experimental botany. – 2017. – Т. 69. – No. 2. – С.329-339. doi: 10.1093/jxb/erx254, # – equal contribution (Web of Science, Scopus, IF- 5.830)

2. Omelyanchuk, N. A., Wiebe, D. S., Novikova D. D., Levitsky, V. G., Klimova, N., Gorelova, V., C. Weinholdt, G. V. Vasiliev, E. V. Zemlyanskaya, N. A. Kolchanov, A. V. Kochetov, I. Grosse, V. V. Mironova. 2017. Auxin regulates functional gene groups in a fold-change-specific manner in *Arabidopsis thaliana* roots. /Scientific reports. – 2017. – Т. 7. – No. 1. – С. 2489. doi:10.1038/s41598-017-02476-8 (Web of Science, Scopus, IF-4.847)

3. Klaus Brackmann, Jiyan Qi, Michael Gebert, Virginie Jouannet, Theresa Schlamp, Karin Grünwald, Eva-Sophie Wallner, Daria D. Novikova, Victor G. Levitsky, Javier Agustí, Pablo Sanchez, Jan U. Lohmann and Thomas Greb. Spatial specificity of auxin responses coordinates wood formation //Nature communications. – 2018. – Т. 9. – No. 1. – С. 875. doi:10.1038/s41467-018-03256-2 (Web of Science, Scopus, IF-12.124)

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные. Отзывы прислали:

1. Бабенко В.Н. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). «Замечания: 1) Из автореферата непонятно, как ТФ ARF связан с гормоном ауксина; 2) Предложенное в качестве продолжения работы исследование N

концов, как таковое, имеет малое отношение к задаче, и более относится к задаче белковых конформаций. 3) ...было бы интересно посмотреть зависимость точности предсказания от числа использованных транскриптомов (или числа ДЭГ); 4) Было бы уместно сказать в разделе «личный вклад», что автор «участвовал и в экспериментальной, и в биоинформатической части работы», если это действительно так»

2. Пиндюрин А.В. - к.б.н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией клеточного деления ИМКБ СО РАН (г. Новосибирск).
3. Пенин А.А. - к.б.н., заведующий лабораторией геномики растений института проблем передачи информации им А.А. Харкевича РАН (г. Москва).
4. Ильина Е.Л. - к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточных и молекулярных механизмов развития растений ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (г. Санкт-Петербург).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что поскольку исследование междисциплинарное, один из официальных оппонентов является более компетентным специалистом в области математической биологии и биоинформатики, а второй – в области молекулярной биологии и генетики растений, 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 изучению структурных особенностей и регуляции генов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработан метод транскриптомного анализа ассоциаций и доказана перспективность его использования для поиска и анализа новых цис-регуляторных элементов в структуре промоторов генов раннего и позднего ответа на фитогормон ауксин у *Arabidopsis thaliana*.

Доказано, что промоторы ауксин-чувствительных генов *A. thaliana* обогащены регуляторными элементами (AuxRE) различной структуры, причем наибольшее количество регуляторных модулей обнаружено в промоторах генов раннего ответа на ауксин. **Предложена** гипотеза, что структурная сложность регуляторных районов ауксин-чувствительных генов является отражением множественности сценариев клеточных ответов на ауксин.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые **изучено** разнообразие ауксин-ассоциированных цис-регуляторных элементов. **Показано**, что в структуре промоторов ауксин-чувствительных генов встречаются как одиночные, так и парные шестинуклеотидные AuxRE элементы, а также сложные регуляторные модули, состоящие из нескольких одиночных и/или парных элементов в непосредственной близости друг от друга.

Показано, что с ответом на ауксин ассоциированы как известные сайты связывания семейств транскрипционных факторов bZIP, bHLH, TCP, так и большое количество неизвестных последовательностей, среди которых значительная доля представлена А/Т-богатыми элементами.

Изучена функциональность шести предсказанных парных AuxRE в составе регуляторных районов генов *IAA30*, *GATA23*, *AGP22*, *ARP1*, *BRL2* и *AGP7* *A. thaliana*. **Показано**, что три из них действительно обеспечивают транскрипционный ответ генов *IAA30* и *GATA23* на ауксин.

Изучена функциональность сложного ауксин-чувствительного регуляторного модуля длиной 35 п.н. в промоторе гена *IAA30* и AuxRE элемента TGTCTG в промоторе гена *WOX4*. **Показано**, что AuxRE в промоторе гена *IAA30 in vitro* связывает более 20 транскрипционных факторов из различных семейств, а TGTCTG последовательность в промоторе гена *WOX4* является сайтом связывания транскрипционного фактора ARF5, который негативно регулирует экспрессию гена *WOX4*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработан метод поиска потенциальных цис-регуляторных элементов, ассоциированных с изучаемым феноменом, который позволил выявить особенности регуляции транскрипции генов, чувствительных к ауксину. Этот метод может быть применен к любым организмам, для которых существуют транскриптомные данные.

Предсказанные и верифицированные *in vivo* AuxRE могут быть использованы для создания репортерных конструкций с более высокой чувствительностью к ауксину по сравнению с существующими аналогами.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического профиля, изучающих вопросы биологии развития и физиологии растений, и могут быть использованы в учебном процессе в учреждениях высшего профессионального образования при подготовке специалистов в области системной биологии, молекулярной генетики и биоинформатики.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы современные методы биоинформатики и математической статистики, а также разработанный соискателем метод транскриптомного анализа ассоциаций, примененный для поиска и анализа структуры AuxRE элементов в промоторах генов *A. thaliana*. Для анализа функциональности предсказанных ауксин-ассоциированных цис-регуляторных элементов в промоторах генов *A. thaliana* были использованы методы экспериментальной биологии и генетической инженерии, в том числе, метод ОТ-количественной ПЦР, метод направленного мутагенеза с перекрывающимися праймерами, методы клонирования и трансгенеза, а также микроскопический анализ. Для поиска транскрипционных факторов, вовлеченных в регуляцию ауксин-чувствительных генов была использована дрожжевая одногибридная система.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что в работе использованы современные статистические методы, позволившие

определить ауксин-ассоциированные мотивы, и экспериментальные методы, собранные в эффективную комбинацию для проверки функциональности цис-регуляторных элементов. **Установлено**, что полученные автором результаты достоверны, согласуются с существующими представлениями о регуляции активности генов ауксином и дополняют их. Использование разных статистических методов продемонстрировало высокую воспроизводимость полученных результатов.

Личный вклад автора состоит в разработке биоинформатического метода поиска регуляторных элементов, ассоциированных с изучаемым феноменом, его апробировании и экспериментальной верификации функциональности обнаруженных потенциальных регуляторных элементов, а также анализе литературных данных и обсуждении полученных результатов. 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.» (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация Новиковой Д.Д. 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.

На заседании 4 декабря 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Новиковой Дарье Дмитриевне учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 8 докторов наук по специальности 03.02.07 – генетика и 7 докторов наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 21, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета,
академик РАН



В.К. Шумный

Ученый секретарь

диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

4.12.2019 г.