

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 20 марта 2019 г. протокол № 7

О присуждении Стрыгиной Ксении Владимировне
учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Регуляция тканеспецифической экспрессии генов биосинтеза флавоноидов у видов трибы Triticeae» по специальности 03.02.07 – генетика, принята к защите 15.01.2019 г, протокол № 1, 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, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утверждён ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутверждён Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Стрыгина Ксения Владимировна, 1992 года рождения. В 2015 году окончила Новосибирский государственный университет, Новосибирск.

С 01.10.2015 г. по настоящее время Стрыгина К.В. обучается в очной аспирантуре ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. В период подготовки диссертации работала младшим научным сотрудником научно-образовательного отдела ИЦиГ СО РАН. В настоящее время работает научным сотрудником в лаборатории постгеномных исследований

Федерального исследовательского центра «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург.

Диссертация выполнена в секторе функциональной генетики злаков Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Научный руководитель: **Хлесткина Елена Константиновна** – доктор биологических наук, профессор РАН, врио директора Федерального исследовательского центра «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург.

Официальные оппоненты:

1. **Кочиева Елена Зауровна** - доктор биологических наук, профессор, руководитель группы молекулярных методов анализа генома, ведущий научный сотрудник лаборатории системной биологии растений, ФГУ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва.

2. **Дивашук Михаил Георгиевич** - кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующий лаборатории прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биологии, г. Москва.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва. В своём положительном заключении, подписанном зам. директора по научной работе ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук к.б.н., доцентом Брускиным С.А. и утверждённым врио директора ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук д.б.н. Столповским Ю. А., указало, что «диссертационная работа Стрыгиной Ксении Владимировны «Регуляция тканеспецифической экспрессии генов биосинтеза флавоноидов у видов трибы Triticeae», представленная на соискание учёной

степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика», по своему содержанию, уровню выполнения научных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов полностью соответствует п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (редакция №335 от 21.04.2016 г.), а её автор, Стрыгина К.В., безусловно заслуживает присуждения искомой степени. Отзыв на диссертационную работу и автореферат Стрыгиной Ксении Владимировны был рассмотрен и обсуждён на заседании межлабораторного семинара ИОГен РАН. (протокол заседания №1 от 28 февраля 2019 г.)».

Соискатель имеет всего 31 публикацию, из них 15 - по теме диссертации, в том числе 3 статьи, опубликованных в научных рецензируемых изданиях, (Scopus, PubMed) и 12 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. Strygina K.V., Khlestkina E.K. *MYC* gene family in cereals: Transformations during evolution of hexaploid bread wheat and its relatives //Molecular Biology. – 2017. – Т. 51. – №. 5. – С. 674-680. (Scopus)

2. Strygina K.V., Börner A., Khlestkina E.K. Identification and characterization of regulatory network components for anthocyanin synthesis in barley aleurone //BMC plant biology. – 2017. – Т. 17. – №. 1. – С. 184.(Scopus, PubMed)

3. Шоева О.Ю., Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К. Гены окраски ячменя //Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22. – №. 3. – С. 333-342. (Scopus0)

На диссертацию и автореферат поступило 8 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

1. Давоян Р.О. – д.б.н., зав. отделом биотехнологии «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко» (г. Краснодар).

2. Шаманин В.П. – д.с-х.н., проф., профессор кафедры агрономии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО Омский ГАУ и Потоцкая И.В. – к.с-х.н., доцент кафедры агрономии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО Омский ГАУ (г. Омск).

3. Афанасенко О.С. – д.б.н., проф., академик РАН, зав. лаб. иммунитета растений к болезням ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (г. Санкт-Петербург).

4. Клыков А.Г. – д.б.н., член-корреспондент РАН, зав. отделом селекции и биотехнологии сельскохозяйственных культур ФГБНУ «ФНЦ агробiotехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки» (г. Уссурийск). «К сожалению, в материалах и методах нет описания сколько и по каким признакам взяты для использования в качестве растительного материала линии и образцы пшеницы, ячменя»

5. Логинов Ю.П. – д.с-х.н., проф. Кафедры Технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства ГАУ Северного Зауралья и Казак А.А. – к.с-х.н., доцент, зав. кафедры Технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства ГАУ Северного Зауралья (г. Тюмень).

6. Лоскутов И.Г. – д.б.н., доцент, главный научный сотрудник, заведующий отделом генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ВИР и Ковалева О.Н. – к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ВИР (г. Санкт-Петербург). «Жаль, что автором в разделе «Материалы и методы» не указаны использованные в работе сорта и виды пшениц и эгилопса и результаты, полученные при изучении эволюции генов MBW-комплекса у представителей трибы Triticeae не вошли в выводы данной работы»

7. Пороховинова Е.А. – к.б.н., снс отдела генетических ресурсов масличных и прядильных культур Федерального исследовательского центра «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (г. Санкт-Петербург). «К недостаткам обсуждаемой работы следует

отнести некое пренебрежение к линейному материалу ячменя и пшеницы, на котором построена вся работа. В главе материал и методы, по нашему мнению, необходима таблица с названием линий (или групп линий), их фенотипом и генотипом»

8. Мироненко Н.В. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаб. иммунитета растений к болезням ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (г. Санкт-Петербург).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики растений, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали своё письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтов в нашей стране по генетике.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **установлена** эволюционная последовательность событий, приводящих к образованию паралогичных и гомеологичных копий генов *R2R3-Myb*, *bHLH-Myc* и *WD40* – регуляторов биосинтеза флавоноидов у представителей трибы Triticeae. **Доказано** участие дублицированных копий данных генов в тканеспецифической регуляции синтеза антоцианов у мягкой пшеницы и ячменя. **Доказано**, что эпигенетические механизмы регуляции экспрессии структурных (*F3H*, *CHI*) и регуляторных (*Myc-A1*) генов пути биосинтеза флавоноидов в оптимальных условиях не оказывают существенного влияния на формирование окраски перикарпа, колеоптиля и корня мягкой пшеницы.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые проведён сравнительный анализ структурно-функциональной организации дублицированных копий генов, кодирующих регуляторные факторы *R2R3-Myb*, *bHLH-Myc* и *WD40*, у ячменя (род *Hordeum*), пшениц (род *Triticum*) и эгилопса (род *Aegilops*). **Показано**, что в регуляцию синтеза флавоноидов у мягкой пшеницы вовлечены 8 копий гена *R2R3-Myb*

(хромосомы 4L, 7S), 11 – гена *bHLH-Myc* (хромосомы 2L,4L) и 5 – гена *WD40* (хромосомы 4L, 6L). В соответствующих хромосомах ячменя обнаружено три копии гена *R2R3-Myb* и по две копии генов *bHLH-Myc* и *WD40*.

Изучены особенности эволюции семейств генов *R2R3-Myb*, *bHLH-Myc* и *WD40* в родах *Hordeum*, *Triticum* и *Aegilops*. **Установлено**, что копии гена *R2R3-Myb* возникли в результате двух последовательных дупликаций. Первая дупликация в хромосомах 4/7 общего предка трибы Triticeae привела к образованию групп генов *Mpc1-1* и *Mpc1-2*. Вторая, в хромосоме 4, привела к образованию генов *Mpc1-3*, которые оказались сильнее всего подвержены псевдогенизации и элиминации из геномов злаковых растений. Копии гена *bHLH-Myc* возникли в результате нескольких актов дупликаций, первая из которых произошла у общего предка трибы Triticeae в хромосомах 2/4 и привела к образованию групп генов *Myc1* и *Myc2*. Копии гена *WD40* возникли в результате одного акта дупликации в хромосоме 6, которая произошла намного раньше дивергенции родов *Triticum/Hordeum* и *Zea/Triticum*. **Показано**, что скорость эволюции генов *R2R3-Myb* и *bHLH-Myc* существенно выше, чем гена *WD40*.

Изучен уровень экспрессии дуплицированных копий генов *R2R3-Myb*, *bHLH-Myc* и *WD40* в различных органах и тканях ячменя и пшениц. **Доказано**, что основным регулятором биосинтеза антоцианов в алейроновом слое ячменя является ранее неизвестный *Myc*-кодирующий ген ячменя *HvMyc2* (хромосома 4HL), возможно с участием генов *HvMpc1-H2* и *HvMpc1-H3*, расположенных в той же хромосоме. **Установлено**, что в оптимальных условиях биосинтез флавоноидных пигментов в колеоптиле мягкой пшеницы контролируется геном *TaMyc-B1* (хромосома 2BL), а в условиях стресса – предположительно с участием других гомеологичных *Myc*-кодирующих копий генов. **Предполагается**, что гены мягкой пшеницы *TaMpc1-A2* (хромосома 5AL) и *TaMpc1-D4* (хромосома 4DL) являются сорегуляторами ранее известных *bHLH-Myc* генов синтеза флавоноидов в колеоптиле и перикарпе.

Охарактеризованы паттерны метилирования последовательностей ДНК промоторов регуляторного гена *TaMyc1-A1* и структурных генов *TaF3H-B1*, *TaF3H-B2* и *TaCHI-A1*, *TaCHI-B1*, *TaCHI-D1* мягкой пшеницы в тканях перикарпа, колеоптиле и корня растения. **Показано**, что в оптимальных условиях степень метилирования промоторов данных генов не влияет на уровень их тканеспецифической экспрессии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что **разработаны** специфические CAPS-маркеры к генам *HvMyc2* и *HvMrc1-H2*, которые могут быть использованы при маркер-ориентированной селекции для получения сортов ячменя с высоким содержанием флавоноидных пигментов в зерновке. Аллельные различия, выявленные в составе регуляторных и кодирующих частей генов *HvMyc2*, *HvMrc1-H2* и *HvMrc1-H3* могут быть использованы для геномного редактирования с целью насыщения отдельных органов флавоноидами ячменя. Полученные результаты могут быть использованы в научно-исследовательских учреждениях биологического и сельскохозяйственного направления, связанных с изучением генетики и селекции злаков, а также в образовательном процессе при чтении курсов по генетике развития, селекции и биотехнологии растений.

Применительно к проблематике диссертации результативно применены стандартные подходы, используемые в генетике, молекулярной биологии и биоинформатике, которые были оптимизированы к конкретным условиям экспериментов: идентификация и функциональная аннотация генов, *in silico* анализ *цис*-регуляторных последовательностей генов, полимеразная цепная реакция и её количественная модификация в реальном времени, выделение, очистка, клонирование и секвенирование нуклеиновых кислот, конструирование генетических карт, молекулярное картирование, бисульфитное секвенирование ДНК. С их помощью в А, В, S и D геномах представителей трибы Triticeae выявлены новые гены, относящиеся к семейству R2R3-Myb, bHLH-Myc и WD40 транскрипционных факторов,

участвующие в тканеспецифической регуляции синтеза антоцианов, а также изучены паттерны метилирования *цис*-регуляторных элементов в генах *F3H*, *CHI* и *Мус-А1* мягкой пшеницы, исследование которых позволило расширить существующие знания о механизмах регуляции биосинтеза флавоноидов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность и воспроизводимость, которая подтверждается использованием для их получения широкого спектра молекулярно-генетических методов, а также адекватных генетических моделей, включающих широкий спектр изогенных линий и сортов пшеницы и ячменя. Данные о скорости эволюции регуляторных генов *R2R3-Myb*, *bHLH-Myc* и *WD40* у представителей трибы *Triticeae*, сопоставимы с результатами, полученными ранее на других растительных культурах. Интерпретация результатов исследования молекулярно-генетических и эпигенетических механизмов регуляции антоциановой окраски различных органов и тканей ячменя и пшеницы учитывает имеющиеся в литературе данные по рассматриваемой тематике.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии автора в планировании и проведении экспериментов, обсуждении полученных результатов, представлении материалов на научно-практических конференциях и подготовке публикаций. Все научные результаты были получены автором самостоятельно.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 6. «Эпигенетика» и п. 7. «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Роль геномных перестроек в реализации генного действия. Взаимодействие генов.» паспорта специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация Стрыгиной К.В. представляет собой завершённую, самостоятельную научно-квалификационную работу и соответствует критериям, предъявляемым к диссертации на соискание учёной степени кандидата биологических наук,

утверждённым постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 28.08.2017) "О порядке присуждения учёных степеней".

На заседании 20 марта 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Стрыгиной Ксении Владимировне учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 6 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против – нет, недействительных бюллетеней – 1.

Зам.председателя
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Н.Б. Рубцов

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

21.03.2019 г.