

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.020.02 созданного на
базе ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В
СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 25.06.2021 г. № 9

О присуждении Драчковой Ирине Альбертовне, гражданке РФ ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние ассоциированных с наследственными заболеваниями однонуклеотидных замен в ТАТА-боксах на взаимодействие с ТАТА-связывающим белком» по специальности 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите 20.04.2021 г. (протокол заседания № 5) диссертационным советом Д 208.020.02, созданным на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, приказ 12.04.2018 № 403/нк.

Соискатель Драчкова Ирина Альбертовна, 1975 года рождения, в 2000 году окончила Новосибирский государственный университет, работает младшим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Диссертация выполнена в секторе молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН.

Научный руководитель:

Савинкова Людмила Кузьминична, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая сектором молекулярно-генетических механизмов

белок-нуклеиновых взаимодействий ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН.

Официальные оппоненты:

Гуляева Людмила Федоровна, доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза ФГБНУ ФИЦ ФТМ, Жарков Дмитрий Олегович, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией белковой инженерии факультета естественных наук ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Воробьевой Надеждой Евгеньевной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником, заведующей группой динамики транскрипционных комплексов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук, и утвержденном Георгиевым Павлом Георгиевичем, доктором медицинских наук, академиком РАН, директором ИБГ РАН указали, что по актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне, диссертационная работа соответствует специальности 03.01.01 – молекулярная биология (биологические науки) и требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Драчкова И.А. заслуживает присуждения искомой степени – кандидат биологических.

Соискатель имеет 42 опубликованных работы, включая 30 статей в рецензируемых журналах ВАК и 12 тезисов конференций. По теме диссертации опубликовано 5 статей, в которых изложены основные результаты, из них 5 - в рецензируемых научных изданиях.

1. Savinkova L.K., Ponomarenko M.P., Ponomarenko P.M., Drachkova I.A., Lysova M.V., Arshinova T.V., Kolchanov N.A. TATA box polymorphisms in human gene

- promoters and associated hereditary pathologies. // *Biochemistry (Mosc)*, 2009, 74(2):117-29.
2. Drachkova I.A., Ponomarenko P.M., Arshinova T.V., Ponomarenko M.P., Suslov V.V., Savinkova L.K., Kolchanov N.A. In vitro examining the existing prognoses how TBP binds to TATA with SNP associated with human diseases. // *Health*, 2011, 3(9):577-583.
 3. Драчкова И.А., Шеховцов С.В., Пельтек С.Е., Пономаренко П.М., Аршинова Т.В., Пономаренко М.П., Меркулова Т.И., Савинкова Л.К., Колчанов Н.А. Изучение взаимодействия ТВР человека с ТАТА-элементом промотора гена NOS2A с использованием метода поверхностного плазмонного резонанса. // *Вавиловский журнал Генетики и селекции*, 2012, 16(2):391-396.
 4. Savinkova L., Drachkova I., Arshinova T., Ponomarenko P., Ponomarenko M., Kolchanov N. An experimental verification of the predicted effects of promoter TATA-box polymorphisms associated with human diseases on interactions between the TATA boxes and TATA-binding protein. // *PLoSOne*. 2013; 8(2):e54626.
 5. Drachkova I., Savinkova L., Arshinova T., Ponomarenko M., Peltek S., Kolchanov N. The mechanism by which TATA-box polymorphisms associated with human hereditary diseases influence interactions with the TATA-binding protein. // *Hum Mutat*. 2014, 35(5):601-8.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от д-ра биол. наук Меркуловой Т.И. (ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, зав. лаб. регуляции экспрессии генов, лаб. эпигенетики стресса) – отзыв положительный; от канд. биол. наук Кожевниковой О.С. (ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, ст. науч. сотр. лаб. молекулярных механизмов старения, зав. лаб. исследования патогенеза ВМД) – отзыв положительный; от канд. хим. наук Петрусовой И.О. (ФГБУН ИХБФМ СО РАН, ст. науч. сотр.) – отзыв положительный; от д-ра биол. наук Пономаренко М.П. (ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, зав. сектором регуляторной компьютерной геномики) – отзыв положительный; от канд. биол. наук Арковой О.В. (ФГБУН ИБГ РАН, науч. сотр.) – отзыв положительный; от д-ра биол. наук, доц. Соленова Е.И. (ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, сектор молекулярной физиологии клетки лаборатории физиологической генетики, гл. науч. сотр.) – отзыв положительный, со

следующими замечаниями: «Реферат содержит неудачные фразы и упущения. Средние значения величин констант диссоциации приводятся с погрешностями, для которых не указано, являются ли они стандартным отклонением или ошибкой среднего, не указаны объемы статистических выборок, нет списка аббревиатур, на странице 16 есть утверждение, что аффинность изменилась на 12 %, что без дополнительных данных выглядит как превышение точности.»; от д-ра хим. наук Кузнецова Н.А. (ФГБУН ИХБФМ СО РАН, лаб. исследования модификации биополимеров, вед. науч. сотр.) – отзыв положительный, имеются замечания: «Следует отметить, что в рамках данной работы взаимодействие ТВР с модельными ДНК-дуплексами, содержащими последовательность ТАТА-боксов, описывали простым одностадийным механизмом, что позволило рассчитать константы скорости ассоциации и диссоциации, а также равновесную константу диссоциации комплекса ТВР/ТАТА. Однако согласно литературным данным, например Arkova et al, Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2017, известно, что механизм образования специфического комплекса ТВР с ДНК включает несколько стадий взаимодействия. Поэтому возникает вопрос, может ли повлиять упрощение механизма взаимодействия на интерпретацию полученных результатов?»; от канд. физ.-мат. наук Хмелевского Н.О. (ФГБОУ ВО "МГТУ "СТАНКИН", лаб. исследования свойств материалов, инженер I кат.) – отзыв положительный, с замечанием: «...Хотя автор указывает на функциональную гетерогенность ТАТА-подобных элементов, определенных в соответствии с [Rhee and Pugh, 2012], он не дает уточненного определения в соответствии со своими данными.»; от канд. биол. наук Савельевой Е.М. (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, лаб. сигнальных систем контроля онтогенеза, науч. сотр.) – отзыв положительный с замечанием об отсутствии в автореферате ссылок на работы менее чем 5-летней давности; от канд. биол. наук Калабушевой Е.П. (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, лаб. клеточной биологии, науч. сотр.) – отзыв положительный с рекомендацией и замечанием «..Автору стоило несколько подробнее сформулировать раздел «Материалы и Методы», в котором конкретнее сформулировать подходы по созданию биоинформатической модели. Также стоило верифицировать полученные данные путем проверки вариантов ТАТА-бокс на

способность инициировать транскрипцию *in vivo* (хотя присутствуют ссылки на ряд работ, в которых некоторые варианты из использованных проверялись)».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций по близкой научной тематике, и высокой квалификации, позволяющей оценить новизну представляемых на защиту результатов, их научную и практическую значимость, обоснованность и достоверность полученных выводов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан экспериментально-компьютерный подход к поиску функционально значимых SNPs в сайтах связывания TATA-связывающего белка, позволивший выявить достоверную корреляцию экспериментально измеренной аффинности TBP/TATA, выраженной $-\text{Ln}(\text{KD})$, и изменений аффинности $(\delta) = -\text{Ln}[\text{KD, TATA SNP}] - \{-\text{Ln}[\text{KD, TATA}]\}$, с прогнозами *in silico*, сделанными с использованием уравнения пошагового связывания;

предложены кинетические механизмы изменения аффинности TBP/TATA, доказана перспективность уравнения пошагового связывания TBP/TATA для предсказания функционально значимых SNPs в сайте связывания TBP;

введены функциональные уточнения понятий «консенсусный TATA-бокс», «TATA-подобный элемент», «TATA-несодержащая последовательность».

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана применимость уравнения пошагового связывания TBP/TATA для анализа сайтов связывания TBP, в том числе отличающихся от канонических, и выявления функционально значимых SNPs;

изложены аргументы в пользу представления о том, что связывание TATA с помощью TBP является последним, а не первым шагом в связывании кор-промотора с помощью TFIID;

раскрыты функциональные свойства понятий «консенсусный TATA-бокс», «TATA-подобный элемент», «TATA-несодержащая последовательность»;

изучено влияние SNPs в TATA-боксах на фенотипические признаки человека.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан и внедрен с учетом полученных результатов на основе уравнения пошагового связывания web-сервис SNP_TATA_COMPARATOR, позволяющий оценивать сродство промоторной области генов человека (-70:-20) к TBP;

создана коллекция аннотированных SNPs TATA-боксов;

представлены методические рекомендации для определения равновесной константы диссоциации K_D комплекса TBP/TATA и констант скоростей ассоциации и диссоциации k_a и k_d количественным методом задержки ДНК в геле.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены с использованием сертифицированного оборудования, их воспроизводимость подтверждалась как минимум 3 повторами с адекватными контролями. Кроме того, показано совпадение в пределах стандартной ошибки значений равновесных констант K_D комплексов TBP/TATA, полученных в условиях равновесного и неравновесного связывания;

теория о влиянии функционально значимых SNPs в сайтах связывания TATA-связывающего белка на аффинность взаимодействия TBP/TATA основана на литературных данных о зависимости аффинности TBP/TATA от последовательности сайта связывания TBP;

идея базируется на современных представлениях о влиянии функционально значимых SNPs в регуляторных районах на транскрипцию;

использовано сравнение авторских экспериментальных данных об изменении аффинности TBP/TATA при наличии SNPs с литературными данными о биохимическом проявлении SNPs, (более 350 источников);

установлено качественное совпадение с литературными данными;

использованы современные методы статистического анализа данных и представительные выборочные совокупности.

Личный вклад соискателя состоит в: разработке стратегии исследования, поиске и анализе литературных данных об аннотированных SNPs, в планировании экспериментов. Все экспериментальные результаты были получены, обработаны и интерпретированы автором лично.

На заседании 25.06.2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Драчковой И.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 19, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Зам председателя

диссертационного совета

Агафонов Александр Петрович

Ученый секретарь

диссертационного совета

Непомнящих Татьяна Сергеевна

25.06.2021 г.

