

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ В. А. Кратасюк
«____ » _____ 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА
06.03.01 Биология

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ВЕЧНОЗЕЛЁНЫХ И
ЛИСТОПАДНЫХ ДЕРЕВЬЕВ**

Руководитель _____ М. Г. Садовский
подпись, дата _____
должность _____

Выпускник _____ А. Ю. Баталова
подпись, дата _____

Красноярск 2020

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа содержит 34 страницы текстового документа, 1 приложение, 40 использованных источников, 17 рисунков, 6 таблиц.

ЛИСТВЕННИЦА СИБИРСКАЯ, АНАЛИЗ ГЕНОМОВ, ОРТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, СТАРЕНИЕ ЛИСТЬЕВ, ВЕЧНОЗЕЛЁНЫЕ И ЛИСТОПАДНЫЕ ДЕРЕВЬЯ

Цель исследования — выявление генетических особенностей лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), связанных со старением листьев.

Объектами нашего исследования являются некоторые особенности механизмов генетической регуляции листопадности на примере сравнения покрытосеменных и голосеменных растений.

В ходе эволюции как у цветковых растений, так и голосеменных сформировалось такое приспособление к неблагоприятным условиям обитания, как листопад. С развитием технологий секвенирования нового поколения появилась возможность изучить особенности этого явления на генетическом уровне. Механизмы регуляции процесса листопада изучаются на примере цветковых растений. Это исследование поможет ответить на ряд вопросов: «Похожи ли механизмы старения листьев у цветковых и голосеменных растений?», «Различаются ли механизмы старения листьев у вечнозелёных и листопадных растений?»

Был осуществлен анализ представленности белков, связанных со старением, в протеомах вечнозелёных и листопадных деревьев. Выявлены особенности лиственницы сибирской, связанные со старением листьев. А именно, обнаружено отличие в представленности белков (EXL2-подобных, DRM1-подобных), участвующих в сигнальном пути сахаров. Также были обнаружены особенности у вечнозелёных растений в представленности рецептороподобных иммунных рецепторов.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 Обзор литературы	6
1.1 Особенности генетической регуляции старения листьев	6
1.1.1 Хроматин-опосредованная регуляция	8
1.1.2 Регуляция транскрипционными факторами	9
1.1.3 Регуляция на посттранскрипционном уровне	10
1.1.4 Регуляция на трансляционном уровне	11
1.1.5 Регуляция на посттрансляционном уровне	11
1.1.6 Роль фитогормонов в регуляции старения листьев	12
1.2 Методы идентификации ортологов.....	13
2 Материалы и методы	16
2.1 Подготовка геномных и протеомных данных	18
2.2 Аннотация белков с помощью InterProScan.....	18
2.3 Поиск ортологов.....	18
2.4 Аннотация белков с помощью BLAST	18
3 Результаты и их обсуждения.....	19
3.1 Подготовка данных	19
3.2 Поиск интересующих белковых последовательностей.....	20
3.3 Результаты ортологического анализа	20
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	27
СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ	28
ПРИЛОЖЕНИЕ	32

ВВЕДЕНИЕ

В ходе эволюции как у цветковых растений, так и голосеменных сформировалось такое приспособление к неблагоприятным условиям обитания, как листопад. С развитием технологий секвенирования нового поколения появилась возможность изучить особенности этого явления на генетическом уровне. Это исследование поможет на ответить на вопрос: «Подобны ли механизмы старения листьев у цветковых и голосеменных растений?»

Многие замечали, что листья могут опадать все одновременно (листья живут всего один вегетационный сезон), либо постепенно в течение длительного времени (листья живут несколько лет). Для большинства цветковых деревьев характерен массовый листопад, хвойные деревья, в основном, являются вечнозелеными растениями. В качестве исключения стоит отметить лиственницу, которая относится к хвойным растениям, но сбрасывает всю листву осенью, как большинство цветковых.

Объектами нашего исследования являются некоторые особенности механизмов генетической регуляции листопадности на примере сравнения покрытосеменных и голосеменных растений. К настоящему времени уже секвенированы, собраны и аннотированы геномы ряда цветковых (тополь, берёза, дуб и др.) и покрытосеменных (ель, сосна, лиственница и др.) деревьев. Доступ к геномам и их аннотациям открытый (например, база геномов NCBI). Предмет исследования — геномы и протеомы вечнозелёных и листопадных деревьев.

Цель: выявление генетических особенностей лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), связанных со старением листьев.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) подготовка геномных и протеомных данных;
- 2) поиск и аннотация ортологов, связанных со старением листьев, в протеомах вечнозелёных и листопадных растений;

3) выявление генетических особенностей *Larix sibirica*, связанных со старением листьев.

Результаты настоящей работы были представлены на 57-й Международной научной студенческой конференции «МНСК – 2019» (г. Новосибирск), а также на XV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Проспект Свободный – 2019» (г. Красноярск).

1 Обзор литературы

1.1 Особенности генетической регуляции старения листьев

Регуляция генов, связанных со старением (SAG), осуществляется на различных уровнях: хроматин-опосредованная регуляция, транскрипционная, посттранскрипционная, трансляционная, посттрансляционная (табл. 1) [1].

Среди генетических регуляторов старения листьев наиболее распространёнными и хорошо изученными являются белки семейства NAC и WRKY. Синтез исследуемых генов зависит как от эндогенных (изменение уровня активных форм кислорода (АФК), pH, ионов металлов, гормонов), так и от внешних сигналов (засуха, холод, темнота) [1].

В исследованиях [6–10] была описана роль miRNA (малых некодирующих РНК) и tasiRNA (трансактивирующих малых интерферирующих РНК) таких как miR164, miR319, miR396, miR390, tasiR-ARF, которые участвуют в регуляции процесса старения листьев.

Кроме того, наступление этапа старения листьев зависит от скорости развития самих листьев с момента их образования. Координация этапов развития листьев обеспечивается следующими генами, связанными с [1]:

- Клеточным ростом/пролиферацией (BOP1, KNAT1, TCP4, miR396, GPFs, GIFs, ARGOS, ANT, TOR);
- Гормональной регуляцией (AHKs и CRFs (связаны с цитокининами), ARF2 и SAUR36 (связаны с ауксинами));
- Передачей сигналов окислительного стресса (FHY3, FAR1, REF);
- Со световой передачей сигналов (phyA, PHYb, PIFs, GLK2);
- Циркадной регуляцией (TOC1).

Таблица 1 – Генетические регуляторы процесса старения листьев [1]

№	Регуляция	Регуляторы экспрессии генов, связанных со старением	
		Положительные	Отрицательные
1	Хроматин-опосредованная регуляция	<ul style="list-style-type: none"> • HDA9 • DDM1 и DRD1 	
2	Транскрипционная регуляция: 1) Семейство NAC	<ul style="list-style-type: none"> • ANAC016 • ANAC019/055/072 • ANAC029 (NAP) • ANAC032 • ANAC046/087 • ANAC059 (ORS1) • ANAC092 (ORE1) • ATAF1 (ANAC002) • ATAF2 • NTL4 • NTL9 	<ul style="list-style-type: none"> • ANAC042 (JUB1) • ANAC017/082/090 • ANAC083 (VNI2)
		<ul style="list-style-type: none"> • WRKY6 • WRKY22 • WRKY53 • WRKY75 	<ul style="list-style-type: none"> • WRKY54/70 • WRKY18/40/60
		<ul style="list-style-type: none"> • PIF3/4/5 • MYC2/3/4 	<ul style="list-style-type: none"> • bHLH03/13/14/17
			<ul style="list-style-type: none"> • MYB44 • LUX
		<ul style="list-style-type: none"> • TCP2/3/4/5/10/13/24 	<ul style="list-style-type: none"> • TCP19, TCP20
3	Посттранскрипционная	<ul style="list-style-type: none"> • miR319, miR390 	<ul style="list-style-type: none"> • miR164
4	Трансляционная	<ul style="list-style-type: none"> • ORE4 	
5	Посттрансляционная	<ul style="list-style-type: none"> • MAPKKK18 • MPK3, MPK6 	<ul style="list-style-type: none"> • ATL31 • PUB12/13 • SSPP • SAUL1 • MEKK1

1.1.1 Хроматин-опосредованная регуляция

Регуляция экспрессии генов осуществляется путем модификации гистонов и ферментов, моделирующих хроматин. Так, исследователями из Кореи [2] было выявлено, что мутации в гене HDA9 (гистондеацетилаза 9) способствуют замедлению старения листьев. Это объяснялось тем, что HDA9 в комплексе с PWR (транспорт HDA9 из цитоплазмы в ядро) и WRKY53 (присоединение к W-боксу) связывается с промоторами ключевых отрицательных регуляторов старения (APG9, NPX1, WRKY57). Затем деацетилирует остатки лизина на N-концевой части гистонов, тем самым подавляя экспрессию генов (рис. 1).

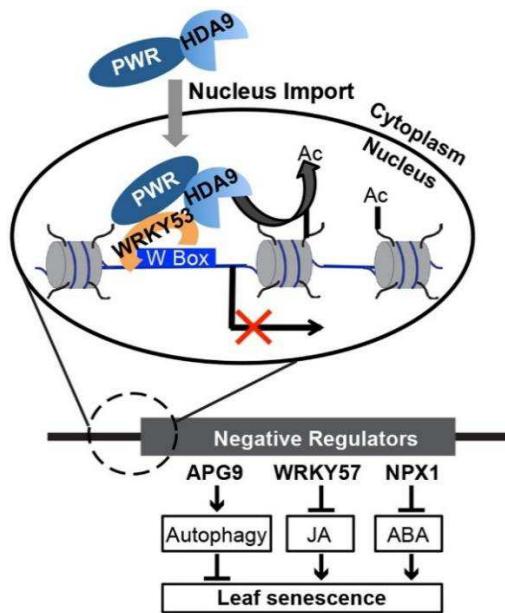


Рисунок 1 – Модель хроматин-опосредованной регуляции экспрессии генов с помощью комплекса HDA9/PWR/WRKY9 [2]

В исследовании [3] было показано, что мутации в геликазном домене в SWI2/SNF2-подобных хроматин-ремоделирующих белках, DRD1 и DDM1, задерживают старение листьев у *Arabidopsis thaliana*, а также увеличивало продолжительность их жизни. В норме эти белки при участии АТФ изменяют состав и расположение нуклеосом, позволяя другим белкам получать доступ к ДНК, в частности ДНК-метилтрансферазам, которые необходимы для подавления экспрессии генов (сайлесинга).

1.1.2 Регуляция транскрипционными факторами

Рассмотрим роль такого фитогормона как жасмоновая кислота (JA). Транскрипционный фактор COI1 в присутствии JA ингибитирует действие JAZ белков (репрессоров старения) (рис. 2), что способствует активации различных ниже стоящих транскрипционных факторов, таких как MYC2/3/4 и bHLH03/13/14/17 [5].

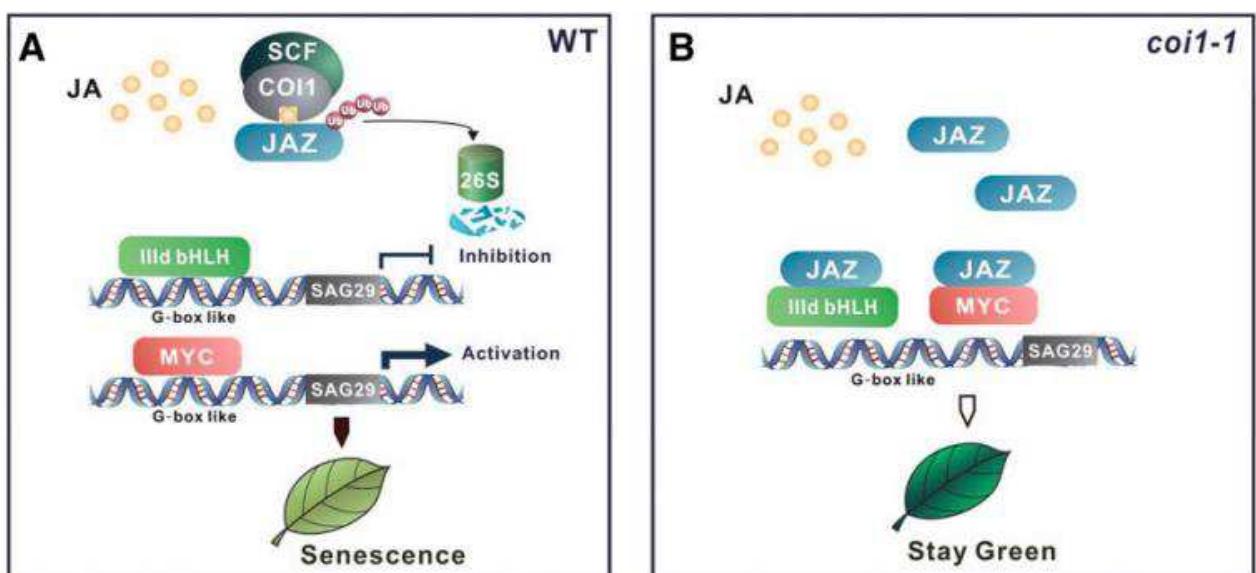


Рисунок 2 – Механизм JA-опосредованного старения листьев [5]

Пожелтение листьев из-за разрушения хлорофилла — один из видимых проявлений старения листьев. Деградация хлорофилла осуществляется при участии EIN3, ANAC092 (этилен-опосредованная) [16], MYC2/3/4 (в присутствии метилжасмоната) [17]. Транскрипционный фактор ANAC046 также выступает положительным регулятором старения листьев, который напрямую связывается с промоторами генов, ассоциированных с катаболизмом хлорофилла (NYC1, NYE, NYE2), активируя их экспрессию [4].

К ингибиторам старения листьев можно отнести ANAC042, ANAC017/082/090, ANAC083, WRKY54/70, WRKY18/40/60, bHLH03/13/14/17, MYB44, LUX, TCP19, TCP20 [1].

1.1.3 Регуляция на посттранскрипционном уровне

В исследованиях [6–10] было выявлено, что посттранскрипционная регуляция старения листьев осуществляется под контролем следующих miRNA (рис. 3):

- 1) miR164 — с возрастом количество этой miRNA в листьях снижается при участии EIN2 [7]; выступает ингибитором ORE1 (положительного регулятора гибели клеток и старения листьев у *Arabidopsis*) [6];
- 2) miR319 — растения со свехэкспрессией этой miRNA проявляют фенотип замедленного старения листьев; мишенью являются гены TCP, которые играют ключевую роль в старении листьев [8];
- 3) miR390 — активирует производство tasiRNAs (образуются из TAS3), целью которых является ген ARF2 (положительный регулятор старения листьев) [9].

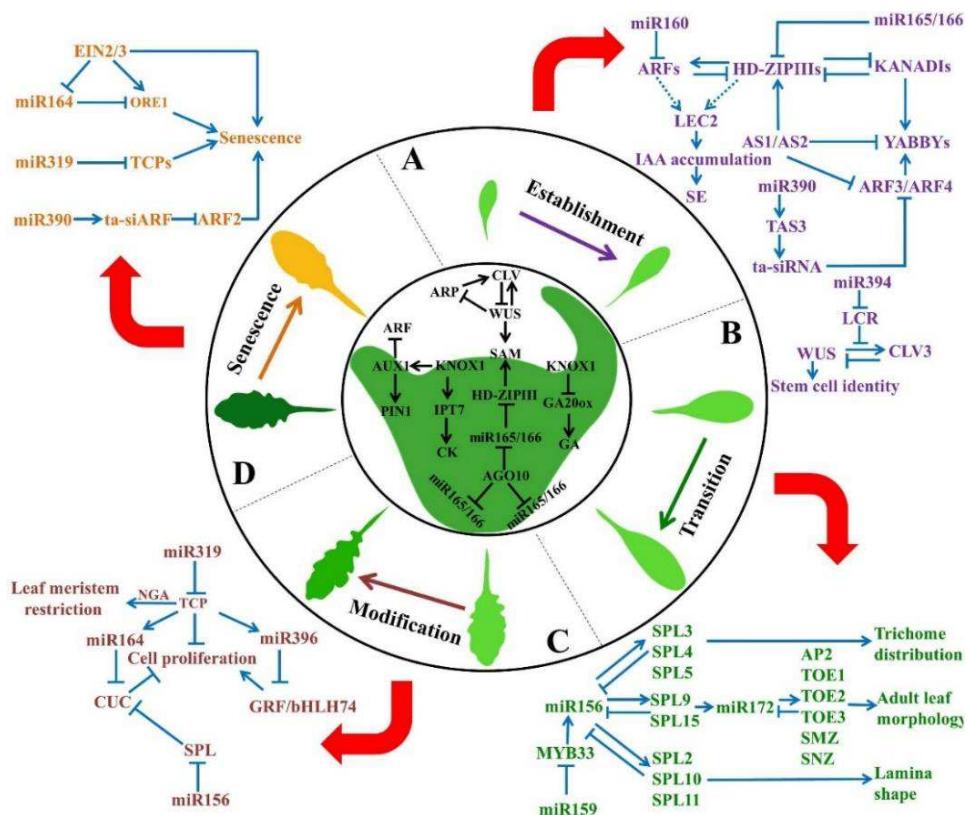


Рисунок 3 – Схема miRNA-регуляции различных этапов развития листьев: образование (А), фазовый переход (от ювенильного к взрослому) (Б), модификация формы (С) и старение листьев (Д) [10]

1.1.4 Регуляция на трансляционном уровне

Известно, что мутация в гене ORE4, которая приводит к замедленному старению и снижению скорости роста листьев. Предполагалось, что это связано со снижением скорости фотосинтеза за счёт уменьшения экспрессии гена PRPSI7 (plastid ribosomal protein small subunit 17). Интересно, что мутация задержала естественное старение, но мало повлияло на искусственно вызванное темнотой, абсцизовой кислотой (ABA), метилжасмонатом (MeJA) и этиленом старение [11].

1.1.5 Регуляция на посттрансляционном уровне

К посттрансляционной регуляции относят такие процессы как фосфорилирование, гликозилирование, убиквитилирование, метилирование и ацетилирование, которые влияют на конформацию, активность, стабильность и локализацию белков [14].

Рассмотрим посттрансляционную регуляцию фермента WRKY53, который является положительным регулятором старения листьев. Этот фермент может фосфорилироваться с помощью MEKK1 (Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1), что приводит к увеличению его способности связываться с промоторами-мишениями в ДНК [12]. В случае убиквитинирования белка WRKY53 с помощью убиквитинлигазы UPL5, происходит его дезактивация (рис.4) [13].

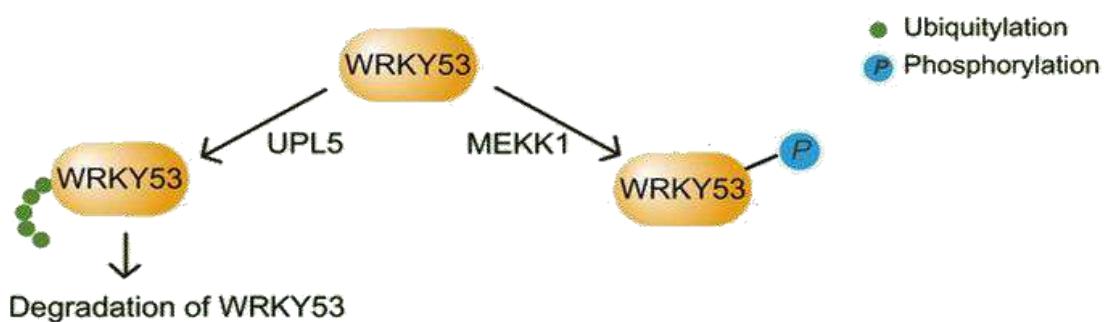


Рисунок 4 – Посттрансляционная регуляция фермента WRKY53 [14]

1.1.6 Роль фитогормонов в регуляции старения листьев

С возрастом в листьях содержание одних фитогормонов увеличивается (этилен, жасмоновая кислота, салициловая кислота, цитокинины), а других уменьшается (гипберлиновая кислота, цитокинины и ауксины). Считается, что первая группа фитогормонов способствует старению листьев, вторая — задерживает старение листьев [15]. Однако, в перечисленных группах встречаются гены с противоположным эффектом, например, ген ARF2 (транскрипционный фактор, связанный с ответом на ауксин) способствует старению листьев. Это было установлено на основании того, что при мутации ARF2 наблюдалась задержка старения листьев [18].

Таблица 2 – Список генов, участвующих в восприятии и передаче сигналов различных фитогормонов, и их роль в старении листьев [15]

№	Гормон	Ген	Название гена в <i>Arabidopsis</i>	Роль в старении листьев	
				Положительный регулятор	Отрицательный регулятор
1	Этилен	EIN2	AT5G03280	+	
		EIN3	AT3G20770	+	
		EIL1	AT2G27050	+	
2	Жасмоновая кислота	COI1	AT2G39940	+	
		JAZ7	AT2G34600		+
		MYC2	AT1G32640	+	
3	Салициловая кислота	ICS1	AT1G74710	+	
		NPR1	AT1G64280	+	
		EDS1	AT3G48090	+	
		PAD4	AT3G52430	+	
4	Абсцизовая кислота	PYL9	AT1G01360	+	
		SnRK2.8	AT1G78290	+	
		ABI5	AT2G36270	+	
5	Гипберлины	DELLAS	AT1G14920		+
6	Цитокинины	AHK3	AT1G27320		+
		ARR2	AT4G16110		+
7	Ауксины	TiR1	AT3G62980	+	
		ARF2	AT5G62000	+	
8	Брацциностероиды	BRI1	AT4G39400	+	

1.2 Методы идентификации ортологов

Два гена гомологичны, если они унаследованы от общего предка. Ортология — это особый тип гомологии, при котором два гена возникли в результате видеообразования. Если же гомологичные гены возникли в результате дупликации гена, то такие гены называют паралогами [19].

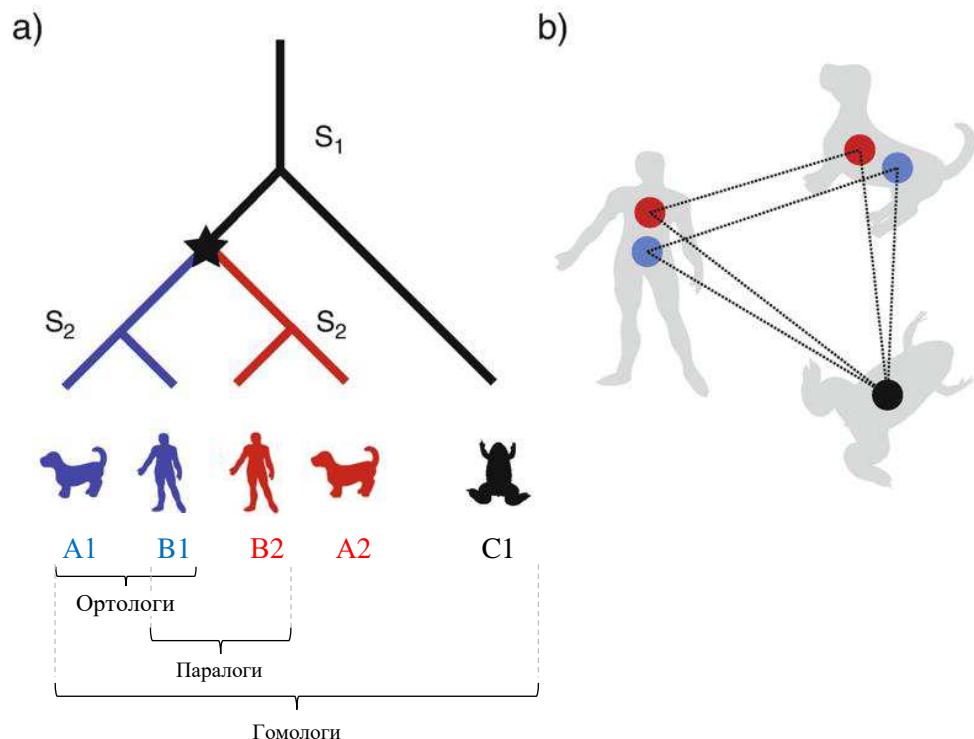


Рисунок 5 – Простой эволюционный сценарий с двумя событиями видеообразования (S_1 и S_2) и одним событием дублирования (звезды) (а), соответствующий ортологический граф (б) [19]

Подходы для de novo идентификации ортологов делятся на две группы [20]:

1. методы, основанные на дереве (программное обеспечение: PhylomeDB);
2. методы, основанные на графах (программное обеспечение: OMA, OrthoDB, OrthoFinder, OrthoMCL, InParanoid/HieranoIDB, OrthoVenn).

Первый подход основан на множественном выравнивании гомологичных последовательностей с дальнейшей реконструкцией филогенетического дерева. Этот метод более длительный, особенно при анализе больших объёмов данных [20].

Второй подход предполагает, что ген одного вида должен быть более схож с его ортологом, чем с любым другим геном второго вида и наоборот. Первый этап подхода — попарное сравнение последовательностей «все против всех». Преимущество методов на основе графов — это быстрота анализа и возможность анализировать большие объёмы данных [20].

Рассмотрим более подробно программу OrthoFinder, основанную на методе графов. В отличие от других программных обеспечений (табл. 3), OrthoFinder позволяет идентифицировать ортологи, ортогруппы, а также производить укоренение генного/видового дерева, анализировать события дупликации генов. В качестве входных данных используются протеомы [22]. Общая схема анализа данных представлена на рис. 6 [21].

Таблица 3 – Сравнение возможностей различных программных обеспечений, связанных с анализом ортологии [22]

№	Программное обеспечение	Ортологи	Ортогруппы	Укоренение генного дерева	Дупликации	Укоренение видового дерева
1	Hieranoid	+	+	+		
2	InParanoid	+				
3	OMA	+	+			+
4	OrthoFinder	+	+	+	+	+
5	OrthoMCL	+	+			
6	Orthoinspector	+				
7	RBH/BBH	+				
8	RSD	+				
9	SonicParanoid	+	+			

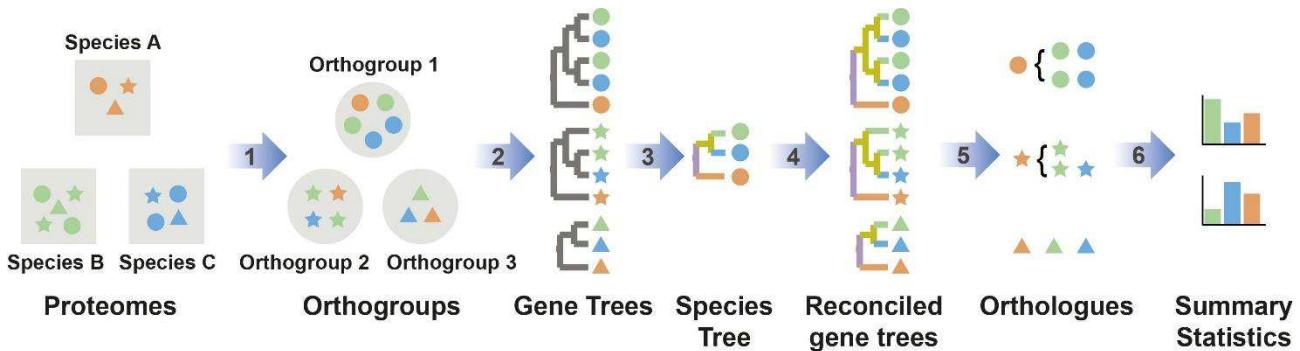


Рисунок 6 – Концепция анализа ортологии с помощью OrthoFinder [21]

Стандартный процесс в OrthoFinder состоит из следующих этапов [21]:

1. Выявление ортогрупп:
 - При помощи BLAST [23] или более быстрых программных пакетов (DIAMOND [24] или MMseqs2) осуществляется попарное выравнивание белковых последовательностей «все против всех», с дальнейшей нормализацией результатов;
 - Далее, кластеризация белков в ортогруппы (программа MCL [25]);
2. Вывод генного дерева может осуществляться двумя путями:
 - a. На основе матрицы расстояний, полученной из результатов попарного выравнивания (программа DendroBLAST [26] / FastMe);
 - b. На основе множественного выравнивания белковых (MSA-подход) — программа MAFFT (множественное выравнивание) и FastTree [27] (реконструкция генного дерева)
3. Вывод видового дерева (программа STAG [28]);
4. Укоренение генных деревьев (программа STRIDE [29]);
5. Вывод ортологов и идентификация событий дупликации генов из генных деревьев (программа DLCpar [30]);
6. Вывод общей статистики.

Альтернативой прогнозированию *de novo* является использование эталонных баз данных ортологов. Учитывая, что идентификация ортологов и вывод видовой филогении тесно переплетены, гипотеза ортологии также может быть проверена одновременно с видовой филогенией [20].

2 Материалы и методы

Объекты исследования, которые были выбраны для сравнительного геномного анализа, приведены в табл. 4. Распределение исследуемых организмов на вечнозеленые и листопадные растения представлено в табл. 5.

Таблица 4 – Объекты исследования

№	Систематическое положение исследуемых организмов			
	Отдел	Порядок	Семейство	Вид
1	Голосеменные/ Хвойные растения <i>(Gymnosperms/ Pinophyta)</i>	Хвойные <i>(Pinales)</i>	Сосновые <i>(Pinaceae)</i>	Псевдотсуга Мензиса <i>(Pseudotsuga menziesii)</i>
2				Лиственница сибирская <i>(Larix sibirica)</i>
3				Сосна ладанная <i>(Pinus taeda)</i>
4				Сосна Ламберта <i>(Pinus lambertiana)</i>
5				Ель обыкновенная <i>(Picea abies)</i>
6	Покрытосеменные/ Цветковые растения <i>(Angiosperms/ Magnoliophyta)</i>	Горечавковые <i>(Gentianales)</i>	Мареновые <i>(Rubiaceae)</i>	Кофе евгениевидный <i>(Coffea eugenoides)</i>
7				Кофе конголезский <i>(Coffea canephora)</i>
8		Мальпигиецветные <i>(Malpighiales)</i>	Ивовые <i>(Salicaceae)</i>	Тополь ефратский <i>(Populus euphratica)</i>
9				Тополь волосистоплодный <i>(Populus trichocarpa)</i>
10				Молочайные <i>(Euphorbiaceae)</i>
11		Сапиновые <i>(Sapindales)</i>	Рутовые <i>(Rutaceae)</i>	Гевея бразильская <i>(Hevea brasiliensis)</i>
12				Апельсин <i>(Citrus sinensis)</i>
13		Розоцветные <i>(Rosales)</i>	Розовые <i>(Rosaceae)</i>	Клементин <i>(Citrus clementina)</i>
14				Персик <i>(Prunus persica)</i>
				Миндаль <i>(Prunus dulcis)</i>

Таблица 5 – Распределение растений по отношению к листопадности

№	Отдел	Вечнозеленые	Листопадные
1	Голосеменные/ Хвойные (<i>Gimnosperms/ Pinophyta</i>)	<ul style="list-style-type: none"> Псевдотсуга Мензиса (<i>Pseudotsuga menziesii</i>) Сосна ладанная (<i>Pinus taeda</i>) Сосна Ламберта (<i>Pinus lambertiana</i>) Ель обыкновенная (<i>Picea abies</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Лиственница сибирская (<i>Larix sibirica</i>)
2	Покрытосеменные/ Цветковые (<i>Angiosperms/ Magnoliophyta</i>)	<ul style="list-style-type: none"> Гевея бразильская (<i>Hevea brasiliensis</i>) Апельсин (<i>Citrus sinensis</i>) Клементин (<i>Citrus clementina</i>) Кофе евгениевидный (<i>Coffea eugenoides</i>) Кофе конголезский (<i>Coffea canephora</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Тополь ефратский (<i>Populus euphratica</i>) Тополь волосистоплодный (<i>Populus trichocarpa</i>) Персик (<i>Prunus persica</i>) Миндаль (<i>Prunus dulcis</i>)

Схема применяемых методов представлена на рис.7.



Рисунок 7 – Методы обработки и анализа геномных данных

2.1 Подготовка геномных и протеомных данных

Из геномной базы NCBI [31] были получены необходимые геномы (в формате fasta), их аннотации (в формате gff) и, в случае наличия, протеомы. С помощью программного пакета «Cufflinks» [32] из геномов исследуемых организмов, в соответствии с их аннотациями, извлекались кодирующие последовательности (CDS) и транслировались в белки с помощью программы EMBOSS [33].

Для определения принадлежности белковых последовательностей к какому-либо надцарству (археи, бактерии, эукариоты, вирусы) был осуществлен поиск ортологов на сервисе «EggNOG-mapper» [34].

2.2 Аннотация белков с помощью InterProScan

Аннотация белковых последовательностей по функциональным доменам была выполнена с помощью программы InterProScan [35]. Для сравнительного анализа были выбраны следующие домены: NAC, WRKY, MYB, TCP, bHLH, поскольку белки, содержащие перечисленные домены проявляют значительную активность процессе старения листьев. Также возможно рассмотрение и других семейств белков, в которых в ходе сравнительного анализа протеомов будет обнаружено различие в представленности в сравниваемых организмах.

2.3 Поиск ортологов

Определение общих и индивидуальных белковых последовательностей в исследуемых геномах вечнозелёных и листвопадных деревьев было выполнено с помощью программы OrthoFinder [21, 22]. Для анализа больших объёмов данных использовались стандартные параметры (вывод ортогрупп на основании результатов DIAMOND [24], вывод генного дерева с помощью программы DendroBLAST [26]). Для анализа малых выборок (на уровне определенных семейств) использовался BLAST для сравнения «всех против всех».

2.4 Аннотация белков с помощью BLAST

После того кластеризации белковых данных в ортологические группы, белки в интересующих ортогруппах были проанализированы с помощью программы BLAST в базе UniProt [23].

3 Результаты и их обсуждения

В связи с авторскими правами были изъяты 19–26 страницы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что у вечнозелёных деревьев самыми представленными являются белки, функционирующие в качестве иммунных рецепторов. Они способствуют повышению устойчивости к патогенам. Наибольший вклад в различие между вечнозелёными и листопадными растениями вносят ортологи LRR–подобной серин/тронин–протеинкиназы At3g47570, активность которой в *Arabidopsis thaliana* возрастает в процессе старения листьев. Подтверждается роль иммунной защиты в регуляции продолжительности жизни листьев.

Для лиственницы, как представителя листопадных хвойных, характерно обогащение ортогрупп, которые включают белки, участвующие в сигнальном пути сахаров. А именно, обнаружено отличие в представленности ортологов белков EXL2 (рецептора углеводов), а также DRM1 (белка, ассоциированного с покоем), индуцируемого гексозами. Обнаруженные особенности согласуются с тем, что сахара участвуют в регуляции такого биологического процесса, как старение листьев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Kim, J. New insights into the regulation of leaf senescence in *Arabidopsis* / J. Kim, J. H. Kim, J. I. Lyu et al. // *Journal of Experimental Botany*. – 2018. – № 4. – Pp. 787–799.
2. Chen, X. POWERDRESS interacts with HISTONE DEACETYLASE 9 to promote aging in *Arabidopsis* / X. Chen, L. Lu, K. S. Mayer et al. // *eLIFE*. – 2016. – № 5. – Pp. 1–23.
3. Cho, E. J. A mutation in plant-specific SWI2/SNF2-like chromatin-remodeling proteins, DRD1 and DDM1, delays leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* / E. J. Cho, S. H. Choi, J. E. Kim et al. // *PLoS ONE*. – 2016. – № 11. – Pp. 1–21.
4. Kim, Y. Mutation of the *Arabidopsis* NAC016 Transcription Factor Delays Leaf Senescence / Y. Kim, Y. Sakuraba, S. Han et al. // *Plant and Cell Physiology*. – 2013. – № 54. – Pp. 1660–1672.
5. Qi, T. Regulation of Jasmonate-Induced Leaf Senescence by Antagonism between bHLH Subgroup IIIe and IIId Factors in *Arabidopsis* / T. Qi, J. Wang, H. Huang et al. // *The Plant Cell*. – 2015. – № 27. – Pp. 1634–1649.
6. Li, Z. Ethylene-insensitive3 is a senescence-associated gene that accelerates age-dependent leaf senescence by directly repressing miR164 transcription in *Arabidopsis* / Z. Li, J. Peng, X. Wen et al. // *Plant Cell*. – 2013. – № 25. – Pp. 3311–3328.
7. Kim, J. H. Trifurcate feed-forward regulation of age-dependent cell death involving miR164 in *Arabidopsis* / J. H. Kim, H. R. Woo, J. Kim et al. // *Science*. – 2009. – № 323. – Pp. 1053–1057.
8. Schommer, C. Control of jasmonate biosynthesis and senescence by miR319 targets / C. Schommer, J. F. Palatnik, P. Aggarwal et al. // *PLoS Biology*. – 2008. – № 6. – Pp. 1991–2001.
9. Marin, E. miR390, *Arabidopsis* TAS3 tasiRNAs, and their AUXIN RESPONSE FACTOR targets define an autoregulatory network quantitatively regulating lateral root growth / E. Marin, V. Jouannet, A. Herz et al. // *Plant Cell*. – 2010. – № 2. – Pp. 1104–1117.
10. Yang, T. The Making of Leaves: How Small RNA Networks Modulate Leaf Development / T. Yang, Y. Wang, S. Teotia, Z. Zhang, G. Tang // *Frontiers in Plant Science*. – 2018. – № 9. – Pp. 1–7.
11. Woo, H. R. Extended leaf longevity in the ore4-1 mutant of *Arabidopsis* with a reduced expression of a plastid ribosomal protein gene / H. R. Woo, C. H. Goh, J. H. Park et al. // *The Plant Journal*. – 2002. – № 31. – Pp. 331–340.
12. Miao, Y. *Arabidopsis* MEKK1 can take a short cut: it can directly interact with senescence-related WRKY53 transcription factor on the protein level and can

- bind to its promoter / Y. Miao, T. M. Laun, A. Smykowski, U. Zentgraf // Plant Mol. Biol. – 2007. – № 65. – Pp. 63–76.
13. Miao, Y. A HECT E3 ubiquitin ligase negatively regulates Arabidopsis leaf senescence through degradation of the transcription factor WRKY53 / Y. Miao, U. Zentgraf // Plant J. – 2010. – № 63. – Pp. 179–188.
 14. Woo, H. R. Plant leaf senescence and death – regulation by multiple layers of control and implications for aging in general / H. R. Woo, H. J. Kim, H. G. Nam // Journal of Cell Science. – 2013. – № 126. – Pp. 4823-4833.
 15. Zhang, Y. Genetic Network between Leaf Senescence and Plant Immunity: Crucial Regulatory Nodes and New Insights / Y. Zhang, H. Wang, Z. Li, H. Guo // Plants. – 2020. – № 9. – Pp. 1–22.
 16. Qiu, K. EIN3 and ORE1 accelerate degreening during ethylene-mediated leaf senescence by directly activating chlorophyll catabolic genes in Arabidopsis / K. Qiu, Z. Li, Z. Yang et al. // PLoS Genetics. – 2015. – № 11. – Pp. 1–20.
 17. Zhu, X. Jasmonic acid promotes degreening via MYC2/3/4- and ANAC019/055/072-mediated regulation of major chlorophyll catabolic genes / X. Zhu, J. Chen, Z. Xie et al. // The Plant Journal. – 2015. – № 84. – Pp. 597–610.
 18. Lim, P. O. Auxin response factor 2 (ARF2) plays a major role in regulating auxin-mediated leaf longevity / P. O. Lim, I. C. Lee, J. Kim, J. et al. // J. Exp. Bot. – 2010. – № 61. – Pp. 1419–1430.
 19. Altenhoff, A. M. Inferring Orthology and Paralogy. In: Anisimova M. (eds) Evolutionary Genomics / A. M. Altenhoff, N. M. Glover, C. Dessimoz // Methods in Molecular Biology. – 2019. – Pp. 149–175.
 20. Kapli, P. Phylogenetic tree building in the genomic age / P. Kapli, Z. Yang, M. J. Telford // Nature Reviews Genetics. – 2020. – Pp. 1–17.
 21. Emms, D. M. OrthoFinder: solving fundamental biases in whole genome comparisons dramatically improves orthogroup inference accuracy / D. M. Emms, S. Kelly // Genome Biology. – 2015. – № 16. – Pp. 1–14.
 22. Emms, D. M. OrthoFinder: phylogenetic orthology inference for comparative genomics / D. M. Emms, S. Kelly // Genome Biology. – 2019. – № 20. – Pp. 1–14.
 23. Camacho, C. BLAST+: architecture and applications / C. Camacho, G. Coulouris, V. Avagyan et al. // BMC Bioinformatics. – 2009. – № 10. – Pp. 1–9.
 24. Buchfink, B. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND / B. Buchfink, C. Xie, D. H. Huson // Nat Methods. – 2015. – № 12. – Pp. 1–5. –
 25. van Dongen, S. A cluster algorithm for graphs. Amsterdam: CWI / S. A. van Dongen // Centre for Mathematics and Computer Science. – 2000.

26. Kelly, S. DendroBLAST: approximate phylogenetic trees in the absence of multiple sequence alignments / S. Kelly, P.K. Maini, R. Desper et al. // PLoS One. – 2013. – № 8. – Pp. 1–11.
27. Price, M. N. FastTree 2-approximately maximum-likelihood trees for large alignments / M. N. Price, P. S. Dehal, A. P. Arkin // PLoS One. – 2010. – № 5. – Pp. 1–10.
28. Emms, D. M. STAG: Species Tree Inference from All Genes / D. M. Emms, S. Kelly // bioRxiv. – 2018. – Pp. 1–29.
29. Emms, D. M. STRIDE: Species Tree Root Inference from Gene Duplication Events / D. M. Emms, S. Kelly // Molecular Biology Evolution. – 2017. – № 34. – Pp. 3267–3278.
30. Wu, Y. C. Most parsimonious reconciliation in the presence of gene duplication, loss, and deep coalescence using labeled coalescent trees / Y. C. Wu, M. D. Rasmussen, M. C. Bansal et al. // Genome Research. – 2014. – № 24. – Pp. 475–486.
31. Trapnell, C. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation / C. Trapnell, B. Williams, G. Pertea et al. // Nature Biotechnology. – 2010. – № 28. – Pp. 511–515.
32. Trapnell, C. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation / C. Trapnell, B. Williams, G. Pertea et al. // Nature Biotechnology. – 2010. – № 28. – Pp. 511–515.
33. Rice, P. EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite / P. Rice, I. Longden, A. Bleasby / Trends in Genetics. – 2000. – № 16. – Pp. 276–277.
34. Fast genome-wide functional annotation through orthology assignment by eggNOG-mapper / J. Huerta-Cepas, K. Forslund, L. P. Coelho et al. // Molecular Biology and Evolution. – 2017. – № 34. – Pp. 2115–2122.
35. Jones, P. InterProScan 5: Genome-Scale Protein Function Classification / P. Jones, D. Binns, H. Chang et al. // Bioinformatics. – 2014. – № 30. – Pp. 1236–1240.
36. Dong, J. Expression profiles of the *Arabidopsis* WRKY gene superfamily during plant defense response / J. Dong, C. Chen, Z. Chen // Plant Molecular Biology. – 2003. – № 51. – Pp. 21–37.
37. Gaudet, P. Phylogenetic-based propagation of functional annotations within the Gene Ontology consortium / P. Gaudet, M. S. Livstone, S. E. Lewis et al. // Briefings in Bioinformatics. – 2011. – № 12. – Pp. 449–462.

38. Stele, J. F. C. Structural and biochemical studies of an NB-ARC domain from a plant NLR immune receptor / J. F. C. Steele, R. K. Hughes, M. J. Banfield // PLoS One. – 2019. – № 14. – Pp. 1–20.
39. Schröder, F. Expression pattern and putative function of EXL1 and homologous genes in Arabidopsis / F. Schröder, J. Lisso, C. Müssig // Plant Signal Behav. – 2012. – № 7. – Pp. 22–27.
40. Gonzali, S. Identification of sugar-modulated genes and evidence for vivo sugar sensing in Arabidopsis / S. Gonzali, E. Loreti, C. Solfanelli et al. // Journal of Plant Research. – 2006. – № 119. – Pp. 115–123.

ПРИЛОЖЕНИЕ

В связи с авторскими правами были изъяты 32–34 страницы.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

Б. А. Кратасюк

«22 » июня 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ВЕЧНОЗЕЛЁНЫХ И
ЛИСТОПАДНЫХ ДЕРЕВЬЕВ

Руководитель

М. Г. Садовский
подпись, дата

М. Г. Садовский

руководитель
должность

Выпускник

А. Ю. Баталова
подпись, дата

А. Ю. Баталова

Красноярск 2020