

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

**«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ и ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ИЦиГ СО РАН)**

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090

Телефон: (383) 363-49-80

Факс (383) 333-12-78

E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

<https://www.icgbio.ru>

ИНН 5408100138/КПП 540801001

ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

**Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики»
Сибирского отделения Российской
академии наук» (ИЦиГ СО РАН)**

академик А.В. Кочетов

М.П. «ИЦиГ СО РАН» 16.12.2024 г.



от 16.12.2024 № 15345-29-38/1533
на № _____ от _____

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**на диссертационную работу Неждановой Анны Владимировны
на тему «Эффекты гетерологичной экспрессии генов транскрипционных факторов
(MADS-box, YABBY) и редактирования генов метаболизма (PHO1a, PDS) на
особенности регуляции онтогенеза *Nicotiana tabacum* и *Solanum tuberosum*»,
представленную в диссертационный совет на соискание учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология**

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Анны Владимировны Неждановой посвящена характеристике функций отдельных MADS- и YABBY-доменных транскрипционных факторов нескольких видов растений на примере созданных диссертантом трансгенных растений табака со сверхэкспрессией кодирующих ТФ исследуемых генов или трансгенных растений табака и картофеля с измененным содержанием жизненно важных метаболитов. Основное внимание диссертанта по данной проблеме сосредоточено на сравнительном анализе членов семейства генов MADS и YABBY у таких видов растений, как хризантема, подсолнечник, подьельник, томаты и резуховидка Таля, являющихся представителями разных семейств, различающихся между собой. Особый интерес среди выбранных для анализа видов растений представлял подьельник (семейство Вересковые), для которого отсутствие не только хлорофилла и листьев, но и собственной корневой системы привело к формированию сложного симбиотического образа жизни. Так как основные функции генов семейства MADS и YABBY принято считать консервативными, представлялось актуальным продемонстрировать это положением с использованием растений, у которых часть функций была утеряна в ходе эволюции, что могло сопровождаться и потерей функций части исследуемых в данной диссертационной работе генов. Следует подчеркнуть, что в ходе доместикации хозяйственно-важных видов растений

гены анализируемых семейств MADS и YABBY выступали в качестве ключевых мишеней селекции, что несомненно подчеркивает важность и актуальность проведенных диссертантом исследований.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа, в целом, написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, результатов и их обсуждения, выводов и списка цитированной литературы. Работа изложена на 154 страницах и содержит 62 рисунка и 19 таблиц. Список литературы включает 255 источников.

Во Введении диссертантом обоснованы актуальность темы, научная новизна и практическая значимость, сформулирована цель исследования и поставлены задачи для ее достижения. На основании представленных в этом разделе материалов, цель диссертационной работы, направленная на сравнительный анализ функциональной активности целевых генов семейств *YABBY* и *MADS-box* в развитии растения, а также в ответных реакциях растения на стрессовые факторы.

Первая глава диссертационной работы посвящена обзору литературы и включает современные данные о развитии растений в ходе эволюции, доместикации и селекции с акцентом на основные мишени - транскрипционные факторы, обеспечивающие регуляцию развития и ответных реакций растений на различные воздействия окружающей среды. Основное внимание диссертантом уделено рассмотрению генов двух семейств MADS и YABBY, являющихся ключевыми в регуляции развития и формирования ценных признаков у растений. Рассмотрены вопросы, связанные с улучшением хозяйственно-ценных признаков важных сельскохозяйственных культур с применением методов и подходов традиционной селекции, а также современных методов генетической инженерии и геномного редактирования. В целом, обзор литературы касается тех проблем, которые имеют непосредственное отношение к теме диссертационной работы. Следует отметить, что все литературные данные проанализированы соискателем квалифицированно, поэтому сформулированная цель исследования и поставленные для ее достижения задачи, звучат вполне убедительно.

Традиционно после обзора литературы приводится описание **Материалов и методов** исследования. В этой главе диссертантом детально изложены методические особенности и приемы работы. Использован целый арсенал современных методов биоинформатики, молекулярного анализа и генетической инженерии, применяемых в мировой практике для проведения такого рода работ. Особенно хотелось бы подчеркнуть корректное использование генетически модифицированных растений для выявления эффектов проявления функций отдельных MADS- и YABBY-домениных транскрипционных факторов.

Аналитическое рассмотрение главы "**Результаты и обсуждение**" позволяет заключить следующее: автором выполнена серия экспериментов, спланированных на хорошем профессиональном уровне, которые позволили полностью решить поставленные в ходе проведения исследования задачи. Диссертантом с применением современных баз данных приведено описание структурно-классификационного анализа семейств YABBY и MADS у объектных видов растений, где автором отмечены YABBY-гены подсемейства *FIL* и MADS-box гены В-, С- и Е-классов генетической активности, ожидаемые функции которых в развитии растения и, в частности, цветка, наиболее интересны для исследования. Полученные в диссертационной работе экспериментальные данные расширяют имеющиеся представления о структуре и функциях генов семейства YABBY клады *FIL* подъельника и хризантемы, а также о структуре и функциях семейства MADS-box генов на примере используемых в качестве

моделей трансгенных растений табака и томатов со сверхэкспрессией исследуемых генов. Сильной стороной данной диссертационной работы является возможность оценки вклада не только каждого отдельного гена этого семейства, но и их суммарный вклад при объединении двух и более генов геноме одного гибридного растения. Интересные результаты получены в отношении оценки участия *MADS-box* генов в стрессовых реакциях растений, полученные на модельных растениях картофеля и табака с нокаутами генов пластидной крахмалфосфорилазы и фитоиндесатуразы *NtPDS PHO1a*. Завершением данного исследования является Заключение, позволяющее оценить работу в целом и определить ее значимость среди перспективных работ, выполняемых мировыми коллективами исследователей в данном направлении. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам и основаны на экспериментальных результатах, полученных в ходе их реализации.

Диссертационная работа А. В. Неждановой, в целом, написана хорошим профессиональным языком, все экспериментальные данные сведены в таблицы и рисунки. Все демонстрационные материалы характеризуются высоким качеством представления. Исследования в данном направлении имеют не только фундаментальное, но и оригинальное прикладное значение, поскольку открывают перспективы создания новых форм растений с улучшенными характеристиками, представляющих интерес для селекционных генетических программ, включающих различные виды растений.

Степень новизны, научная и практическая значимость результатов исследования

В диссертационной работе с использованием различных подходов и созданных для решения поставленных задач экспериментальных моделей трансгенных растений и мутантных линий с нокаутами целевых генов охарактеризованы растения табака с индивидуальной или совместной гетерологичной сверхэкспрессией отобранных генов *MADS-box* сложноцветных растений (виды сем Астровые) и томата (сем Пасленовые). Подтверждена предсказанная по результатам структурного анализа функция этих генов в регуляции развития органов цветка. Использован оригинальный подход для демонстрации участия генов *MADS-box* в стрессовом ответе растения: получены трансгенные растения табака и картофеля, химерные по редактированию ключевых генов метаболизма крахмала и каротиноидов – важнейших метаболитов в жизни растения. Показано, что изменение содержания крахмала и каротиноидов в таких растениях сопровождается дифференциальной экспрессией генов *MADS-box* А- и Е-классов. Сравнительный функциональный анализ *YABBY*-генов подсемейства *FIL* у двух видов растений – образующего и не образующего листьев, проведен соискателем впервые. Полученные в ходе выполнения этой части работы результаты о консервативности функций анализируемых генов и их сохранении у лишнего листьев нефотосинтезирующего вида растения, обладают высокой степенью новизны. Все результаты проведенных исследований значимы и вносят вклад в решение фундаментальной проблемы механизмов регуляции морфогенеза у растений и ответов на стрессовые воздействия. Полученные диссертантом результаты имеют несомненную практическую ценность, поскольку регуляторная активность многих (если не всех) генов семейств *YABBY* и *MADS-box* влияет на экспрессивность хозяйственно-ценных признаков.

Обоснованность и вероятность заключительных выводов и рекомендации

Использование для исследований классических и современных молекулярно-генетических и биоинформатических методов, а также методов анализа экспериментального материала подтверждают обоснованность и достоверность экспериментальных результатов,

представленных в диссертационной работе А.В.Неждановой, а также выносимых на защиту положений и выводов.

Результаты диссертации рекомендуются для использования в научно-исследовательских учреждениях биологического и образовательного профиля, занимающихся изучением морфогенеза у растений и устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды, а также при чтении спецкурсов по генетике и биотехнологии растений. Полученные результаты и использованная экспериментальная стратегия могут стать основой для дальнейших биотехнологических исследований по конструированию генетически модифицированных растений, как для фундаментальных исследований, так и практических разработок.

Полнота опубликованности положений и результатов диссертации

Основные положения и результаты исследований по диссертации опубликованы в 8-ми работах в журналах из списка, рекомендованного ВАК, а также в 14-ти работах по материалам региональных и международных научных конференций. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Замечания и комментарии к диссертационной работе

Оценивая в целом положительно диссертационную работу Неждановой Анны Владимировны, следует отметить и некоторые недочеты. Так, например, остается неясным, на чем основан выбор видов растений, принадлежащих к разным семействам, используемым в качестве объектов. Диссертантом показано, что эффект сверхэкспрессии генов семейства *MADS-box* часто распространяется практически на все растения табака, особенно в случае гена Е-класса *SIMADS5* и этот эффект связан с изменением органов цветка. Остается неясным, были ли задействованы какие-то другие признаки у анализируемых растений, поскольку диссертантом практически не обсуждается эта возможность. Несмотря на фундаментальный характер выполненной работы, полученные результаты свидетельствуют и об их практической востребованности. В связи с этим было бы логично в заключении более подробно остановиться на перспективах дальнейшей разработки темы выполненного исследования, включая практическое использование результатов.

Однако выявленные недочеты не носят принципиального характера и не затрагивают сути научных выводов, сделанных диссертантом, а также не умаляют значения представленной работы, ее несомненную практическую ценность и научную значимость. Результаты диссертации представлены на нескольких международных конференциях и отражены в публикациях. Их достоверность, а также обоснованность выводов работы, не вызывают сомнения. Выводы, сделанные А.В.Неждановой, полностью отражают изложенные в работе результаты и соответствуют поставленной цели и обозначенным для ее достижения задачам исследования. В целом, диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне и оставляет очень хорошее впечатление

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Неждановой Анны Владимировны «Эффекты гетерологичной экспрессии генов транскрипционных факторов (*MADS-box*, *YABBY*) и редактирования генов метаболизма (*PHO1a*, *PDS*) на особенности регуляции онтогенеза *Nicotiana tabacum* и *Solanum tuberosum*» является законченным исследованием. По своему содержанию диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.6 – Биотехнология, а также требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства РФ от 24.09.2013 N 842, ред. от 25.01.2024), предъявляемым к диссертациям

на соискание ученой степени кандидата наук.

Результаты представленной работы важны для развития научно-обоснованной селекции растений в сельском хозяйстве с целью получения высокоурожайных, стрессоустойчивых сортов с повышенной питательной/диетической ценностью.

Автор диссертационной работы, Нежданова Анна Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Анны Владимировны Неждановой «Эффекты гетерологичной экспрессии генов транскрипционных факторов (*MADS-box*, *YABBY*) и редактирования генов метаболизма (*PHO1a*, *PDS*) на особенности регуляции онтогенеза *Nicotiana tabacum* и *Solanum tuberosum*» рассмотрен на заседании семинара отдела молекулярных биотехнологий, протокол №3 от 10 декабря 2024 года.

Отзыв подготовил: Дейнеко Елена Викторовна, доктор биологических наук (03.00.15 – Генетика), главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биоинженерии растений ФГБНУ «ФИЦ ИЦиГ СО РАН»

«12» декабря 2024 г.



Е.В. Дейнеко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук», 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, д. 10, Россия; тел.: +7(383) 363-49-80; email: icg-adm@bionet.nsc.ru

Подпись Елены Викторовны Дейнеко заверяю

Учёный секретарь

ФГБНУ «ФИЦ ИЦиГ СО РАН»

Кандидат биологических наук

м.п. гербовая



Г.В. Орлова