

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу 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*», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. –

Биотехнология

Представленная диссертационная работа сфокусирована на характеристике роли транскрипционных факторов семейств *YABBY* и *MADS* в регуляции формирования цветка и стрессовом ответе у растений. Исследование **актуально**, поскольку соприкасается с механизмами онтогенеза и адаптационной эволюции растений, а также их domestikации и селекции. Выбор соискателем генов *YABBY* и *MADS-box* как объектов исследования полностью обоснован, так как продукты этих генов вовлечены во множество происходящих в растении процессов, включая определение различных хозяйственно-ценных признаков у сельскохозяйственных культур. Результаты исследований А.В. Неждановой генов *YABBY* и *MADS-box* не только пополняют уже имеющиеся данные об основах онтогенеза и морфологического разнообразия растений (**научная новизна**), но также могут быть использованы в селекции культурных растений (**практическая значимость**).

Научные положения и выводы в представленной диссертации являются **обоснованными и достоверными**, так как согласуются с результатами других исследований в данной области, включая постулаты моделей регуляции асимметричного развития органов растения, формирования цветка и функционирования *MADS*-доменных транскрипционных факторов в виде мультимерных комплексов.

Структура диссертации логична и включает последовательно расположенные введение, обзор литературы, методическую часть, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы и приложение. Содержание работы изложено в четкой, понятной манере на 152 страницах, иллюстрировано 162 рисунками, снабжено 19 таблицами и находится в полном соответствии с направлением исследования. Список литературы включает 256 литературных источников, в том числе 245 иностранных.

Во **Введении** даны краткое описание темы и структуры работы, аргументация актуальности и значимости, цель, задачи и методология исследования, обоснование достоверности результатов и защищаемые соискателем положения.

Обзор литературы (на 37 стр.) дает представление о разрабатываемой

диссертантом теме, касающейся структуры и участия YABBY- и MADS-доменных транскрипционных факторов в онтогенезе, эволюции и морфологическом разнообразии растений. Согласно приведенным в обзоре данным, гены *MADS-box* вовлечены в регуляцию широкого круга протекающих в растении процессов – от биосинтеза метаболитов до репродуктивного развития и адаптации к различным условиям окружающей среды. В то же время роль генов *YABBY* довольно узка и сводится к определению абаксиально-адаксиальной полярности надземных органов растения, без чего, однако, невозможно корректное развитие растения. Обе группы генов считаются принадлежащими к ключевым мишеням селекции культурных растений, поскольку их функционирование определяет экспрессивность многих важных признаков, таких как сроки цветения/созревания, характеристики соцветия/плодов/зерен, образование и жизнеспособность семян, и многое другое. В целом, обзор литературы информативен, показывает хорошую теоретическую подготовку автора и является достойным обоснованием экспериментальной части исследования.

Глава **Материалы и методы** (на 12 стр.) сжато описывает использованные в работе протоколы применения современных методов генетической инженерии, молекулярной биологии и биохимического анализа растений. Перечислены также основные программы и базы данных, с помощью которых соискатель проводил поиск и биоинформационную обработку данных. Методическая часть полностью соответствует поставленным в диссертации задачам.

Раздел **Результаты и обсуждение** занимает основную часть диссертации и изложен на 47 стр., не считая Приложения (на 20 стр.), куда вынесены все табличные данные. Глава содержит детальное описание результатов, полученных автором в процессе реализации цели и задач.

На первом этапе работы проведен структурный анализ семейств YABBY- и MADS-доменных транскрипционных факторов у разных видов растений, включая модельные виды и виды-объекты исследования. Построенные дендрограммы в сочетании с известной функцией отдельных белков у модельных растений позволили автору спрогнозировать функции отдельных белков и выбрать среди них наиболее интересные мишени для дальнейшего исследования. На втором этапе работы гены-мишени использованы соискателем для получения конструкций и, далее, трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* со сверхэкспрессией этих генов (индивидуальной или ко-экспрессией). Фенотип этих растений проанализирован, на основе чего сделаны предположения о возможной роли изучаемых генов в регуляции роста и развития растений. На третьем этапе работы диссертантом получены трансгенные растения табака *N. tabacum* и четырех сортов картофеля *Solanum tuberosum* с редактированным геномом и, как следствие, с измененным метаболизмом углеводов и каротиноидов, что

симулировало воздействие стресса. В данных растениях показана дифференциальная экспрессия генов *MADS-box*, как свидетельство их участия в стрессовом ответе растений.

В разделе **Заключение** автор суммирует полученные результаты и предположения о функциях исследуемых генов *MADS-box* и *YABBY*.

Изложенные далее **Выводы** хорошо аргументированы и соответствуют поставленным в работе задачам.

Вопросов и замечаний по работе немного, и они не принципиальны:

1. При изучении функций отдельных генов у растений общепризнанным и наиболее используемым модельным видом считается *Arabidopsis thaliana*. Не совсем понятен выбор соискателем для гетерологичной сверхэкспрессии целевых генов растений табака.

2. Из текста не ясно, почему при сверхэкспрессии генов *MADS-box* в цветке не происходит полных гомеотических преобразований одних органов цветка в другие, хотя согласно модели цветка такие модификации ожидаемы.

3. В разделе «Материалы и методы» 2.11. Определение экспрессии гена следовало бы привести больше информации о референсных генах и способе нормализации данных. Почему для нормализации были использованы референсные гены *ELF1* и *SEC3A*? Как проверяли стабильность их экспрессии? В ряде случаев, например, в разделе «3.3.2. Экспрессия *MADS-box* генов в трансгенных растениях табака N. tabacum с измененным метаболизмом крахмала за счет неполного нокаута гена пластидной крахмалфосфорилазы NtPHO1-L1» вообще непонятно как нормализовались значения экспрессии.

4. Возможность взаимодействий между белками TAG1, FUL2 и SIMADS5 была продемонстрирована с помощью дрожжевой двухгибридной системы. Однако данный подход «славится» ложно-положительными результатами. Была ли проведена проверка образования димеров другим методом, например BiFC или поверхностным плазмонным резонансом?

5. На странице 99 автор констатирует, что полученные им данные не соответствуют ранее показанному на примере картофеля сохранению количества крахмальных гранул в хлоропластах листьев при нокауте PHO1a (Sharma et al., 2023). При этом автор считает, что такая противоречивость данных может быть связана с тем, что в работе (Sharma et al., 2023) был получен полный нокаут гена, тогда как в нашем случае – только частичный. Это утверждение немного странно, т.к. прежде всего данные работы отличаются разными использованными видами растений, а уже потом полный или частичный нокаут генов.

6. В тексте диссертации присутствуют не очень корректные сокращения.

