

ОТЗЫВ

официального оппонента Горюновой Светланы Валерьевны на диссертационную работу Курбидаевой Амины Султановны "Изучение роли гена *ICE2 Arabidopsis thaliana* в контроле устойчивости растений к холоду", представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Воздействие низких температур является одним из основных факторов, обуславливающих современный облик и разнообразие видов растений и ограничивающих их распространение. Кроме того, холод и связанные с ним повреждения наносят значительный вред сельскому хозяйству. В связи с этим актуальной задачей генетики растений является изучение генетических механизмов устойчивости к холоду. Для успешного решения этой задачи необходимым представляется изучение генных сетей и механизмов ответа на стресс модельных генетических объектов, таких как *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Генная сеть устойчивости к холоду включает в себя большое число генов, объединенных в группы, обладающие единой регуляцией (регулоны), важнейшими из которых считаются регулоны CBF/DREB1 и AREB/ABF, индуцируемый абсцизовой кислотой. Число известных генов, вовлеченных в данную сеть, постоянно растет. Наибольший интерес среди изучаемых представляют гены, кодирующие транскрипционные факторы. В состав регулона CBF/DREB1 входят гены транскрипционных факторов - мишеней гена *ICE1*, кодирующего транскрипционный фактор типа bHLH, ранее считавшегося главным регулятором холодового ответа у *A.thaliana*.

Недавно был идентифицирован гомолог *ICE1*, ген *ICE2*, который по данным исследований, проведенных в ИОГен РАН под руководством профессора В.А. Тарасова, также участвует в регуляции ответа на холод.

Для выяснения функциональных особенностей гена *ICE2*, его места в генной сети, регулирующей адаптацию растений к холоду, и связи с регулонами CBF и AREB/ABF, были необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом, можно заключить, что рецензируемая работа, целью которой стало изучение структуры гена *ICE2* и его роли в контроле устойчивости растений *A.thaliana* к холоду, сравнение внутри- и межвидового полиморфизма паралога *ICE2* и *ICE1* и анализ возможных путей эволюции *ICE2*, посвящена решению актуальной проблемы современной генетики, важной для развития мировой науки.

Диссертация А.С. Курбидаевой изложена на 145 страницах, построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения полученных данных, заключения, выводов и приложения. Диссертация иллюстрирована 28 рисунками и 14 таблицами, приложение содержит 5 рисунков и 3 таблицы; а также содержит исчерпывающий список цитируемой литературы (264 источника).

Введение очерчивает исследуемую проблему, а также включает формулировку цели и задач работы, описание ее научной новизны и практической значимости.

Обзор литературы можно условно поделить на два подраздела. В первом приводятся исчерпывающая информация о механизмах воздействия низких температур на растение, в том числе о структурных и биохимических повреждениях, о физиолого-биохимических способах ответа растений на них, а также о генетических механизмах, контролирующих эти процессы. Во втором рассмотрены доступные для исследователей данные о природном биоразнообразии *A.thaliana*, методы изучения адаптаций к климатическим условиям, приведены примеры изучения внутривидового полиморфизма по устойчивости к холоду *A.thaliana*. В целом, обзор позволяет получить подробное представление о проблеме, которой занимается автор.

В разделе *Материалы и методы* изложены основные методические подходы, использованные автором для выполнения работы. Необходимо отметить, что круг примененных методов достаточно широк и в работе удачно сочетаются экспериментальные методы и различные методы анализа данных.

В разделе *Результаты* подробно изложены данные, полученные автором. Раздел состоит из восьми основных подразделов. В первых двух автор впервые демонстрирует, что ген *ICE2* произошел в результате дубликации сегмента хромосомы в семействе *Brassicaceae* и является специфичным для данного семейства. В следующих двух подразделах представлены результаты сравнительного анализа структуры, промоторных областей и данных об экспрессии генов *ICE1* и *ICE2* и показано, что с момента дивергенции ген *ICE2* приобрел новые домены, а также новые регуляторные элементы и отличается от *ICE1* по профилю экспрессии. В пятой части раздела *Результаты* приводится подробный анализ полиморфизма нуклеотидных последовательностей генов *ICE1* и *ICE2* среди природных рас *Arabidopsis thaliana* из различных географических широт. Проведенный анализ позволил выявить различия в действии отбора на отдельные домены генов, а также установить, что ген *ICE1* находится под

действием более сильного стабилизирующего отбора на всем широтном диапазоне произрастания *Arabidopsis thaliana*, чем ген *ICE2*. Таким образом, данные этих трех подразделов говорят о приобретении геном *ICE2* новых функций, изучению которых и посвящен следующий подраздел. Результаты, представленные в данном, шестом, подразделе основаны на большом объеме полученных автором экспериментальных данных. В результате автором впервые установлено, что функцией гена *ICE2* является защита от холода апикальной части побега и выявлены гены, вовлеченные в реализацию данного механизма ответа на холод. В последних двух подразделах автор убедительно демонстрирует роль гена *ICE2* в адаптации к условиям северной границы распространения *Arabidopsis thaliana* и показывает связь между уровнем транскрипции гена *ICE2* и гена *SOC1*, участвующего в контроле времени цветения.

Таким образом автору удалось разносторонне проанализировать структуру, эволюцию и функции исследуемого гена.

Стоит отметить, что полученные автором результаты хорошо проиллюстрированы фотографиями (в том числе, микрофотографиям), диаграммами, графиками и таблицами. Большой объем проанализированных данных и проведенные статистические тесты позволяют судить о достоверности полученных результатов.

В разделе *Обсуждение* полученные результаты интерпретируются с учетом уже имеющихся знаний о механизмах устойчивости растений к холоду, а также представлений об эволюции новых функций генов и формировании адаптаций к условиям среды.

Заключение резюмирует и связывает воедино полученные результаты. *Выводы* диссертации корректны, обоснованны, соответствуют поставленным задачам и отражают суть полученных результатов.

Работа Курбидаевой Амины Султановны вносит существенный вклад в развитие представлений о генетических механизмах, обуславливающих устойчивость к растений к холоду, а также об эволюционных процессах, лежащих в основе возникновения адаптаций видов и популяций к факторам среды.

Полученные знания о структуре, функциях и эволюции гена *ICE2* *A.thaliana* также могут быть использованы для поиска и анализа гомологичных генов в других видах растений с целью изучения их роли в устойчивости к холоду, а также найти применение для решения задач биотехнологии.

Достоверность научных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнения и определяется значительным объемом

проведенных экспериментов, а также адекватным использованием ряда молекулярно-генетических, популяционно-генетических, физиологических и биоинформатических методов исследования. Эксперименты грамотно спланированы и аккуратно выполнены, статистическая обработка результатов проведена корректно.

Стоит также отметить хороший стиль и структурированность изложения материала.

Тем не менее, работа имеет некоторые недостатки:

- На странице 58 автор делает предположение о дупликации генов *ICE1* и *ICE2* у *Brassica rapa* после ее выделения в отдельный вид, хотя характер группировки последовательностей на приводимых в работе дендрограммах позволяет скорее предположить, что дупликация произошла у общего для всего рода *Brassica* предка, или даже ранее
- В разделе 3.5.1 приведены данные о существовании инсерционно-делеционного полиморфизма в последовательности генов *ICE1* и *ICE2*, однако не уточняется, в какой части последовательности он выявлен, и затрагивает ли функциональность гена
- Не ясно, почему на рисунке 22 (стр. 90) результаты анализа уровней экспрессии для трех из шести генов приведены только для растений дикого типа и лишь для одной из двух трансгенных линий
- Кроме того, работа содержит ряд описок, особенно частых в разделе «Обсуждение»

Отмеченные недостатки не влияют на общую высокую оценку работы. Диссертация в целом выполнена на высоком научном уровне и представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на актуальную тему.

Результаты диссертационной работы, выносимые на защиту, прошли достаточную апробацию на 11 научных конференциях, в том числе с международным участием, и опубликованы в 4 статьях в рецензируемых научных журналах, в том числе зарубежных.

Содержание и оформление автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ и полностью отражает содержание диссертации.

Учитывая актуальность выполненных исследований, научную новизну и практическую значимость полученных результатов, считаю, что представленная диссертационная работа соответствует критериям

«Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор, Курбидаева Амина Султановна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

30.04.15

Официальный оппонент:

Горюнова Светлана Валерьевна,
к.б.н., научный сотрудник лаборатории
генетики растений Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Институт общей
генетики им. Н.И. Вавилова

Российской академии наук, www.vigg.ru

(119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, 3)

8 926 218 0858, ogarko2@yandex.ru

Горюнова

Подпись
удостоверяю

Ученый секретарь И. В. ОГАРКОВА
доктор биологических наук



Огаркова О.А.