

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Сулимы Антона Сергеевича «Характеристика гена *LykX*, определяющего специфичность взаимодействия гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика»

Диссертационная работа Сулимы Антона Сергеевича посвящена генетической основе одного из самых известных, но до его работы загадочных феноменов в области симбиотических взаимодействий гороха с клубеньковыми бактериями – узкой симбиотической специфичности некоторых генотипов гороха, происходящих из Афганистана. Попытки молекулярной идентификации определяющего ее гена *Sym2* продолжались многие десятилетия, пока она не была с успехом выполнена автором данной работы. Более того, им были выявлены новые образцы с узкой специфичностью, в том числе два образца из Таджикистана, сходная с афганской узкая специфичность которых определялась совсем другим аллелем выявленного гена. Данный ген был случайно обнаружен среди ВАС-клонов в ходе секвенирования известного ранее паралогичного ему гена. Следует отдать должное автору, который сумел превратить случайность, скорее мешавшую рутинной работе, в открытие и блестящую диссертацию. Ключевым моментом молекулярной идентификации последовательности, обозначенной автором как *LykX* с геном *Sym2* был классический тест на их аллелизм. Однако его было недостаточно ввиду наличия в данном районе группы сцепления I нескольких тесно сцепленных паралогичных генов из серии *Sym*. Поэтому автор с успехом провел также скрининг мутаций по этому гену и изучение их фенотипического эффекта на массиве тиллинговых линий, равно трудоемкий и дорогостоящий. Автором изучена нуклеотидная изменчивость данного гена и выявлено 17 его аллелей. Таким образом, работа сочетает новизну на уровне открытия и многосторонний подход к проблеме при целостности всего исследования. Данную работу можно считать прекрасным примером того, какой должна быть хорошая диссертация.

Материалы диссертации опубликованы в хороших журналах, включая *Frontiers in Plant Science*.

Автореферат ясно и живо написан и хорошо иллюстрирован. Замечаний к нему немного. На с. 11 имеются два спорных утверждения. Спорное утверждение 1 - «Значительные отличия между «афганской» и «таджикской» аллелями *LykX* указывают на их

независимое происхождение». На «зависимое» или независимое происхождение не может указывать Степень различий двух аллелей между собой сама по себе не может указывать на независимое (от общего предка) или зависимое (друг от друга) происхождение, это может следовать лишь из сравнения с другими аллелями. В данном случае из таблицы 1 видно, что таджикский тип отличается от европейского одной аминокислотной заменой, а афганский – тремя заменами в иных переменных позициях, так что между собой таджикский и афганский типы отличаются по четырем переменным позициям, по которым группируются три типа специфичности, а внешняя группа в виде *P. fulvum* не отличается от европейского типа. Таким образом европейский тип является предковым, а афганский и таджикский типы действительно возникли от него независимо. Спорное утверждение 2 – «он [*P. fulvum*] обладает типичной «европейской» аллелью данного гена. Таким образом, признак широкой («европейской») специфичности является столь же древним, что и признак узкой специфичности, которая возникла как минимум дважды: у «афганских» и «таджикских» форм». Из того факта, что центральноазиатские формы принадлежат к тому же виду *P. sativum*, что и сорта гороха европейской селекции, а *P. fulvum* – другой вид, следует, что «европейский» признак специфичности является более древним, а не столь же древним, что и признак узкой специфичности.

Поскольку в гене *LukX* было выявлено 17 несинонимичных замен, а в таблице 1 приведены лишь 4 из них, аминокислотные остатки по которым были общими для одной из трех групп специфичности, как минимум в автореферате очень не хватает рисунка гаплотипической сети расшифрованных аллелей данного гена (в том числе и по всем, а не только несинонимичным заменам), который бы позволил наглядно судить о степени их фактической группировке по типам специфичности. Это сделало бы эволюционные утверждения автора более убедительными.

Хотелось бы все же указать на один общий недостаток, несколько не умаляющий достоинств работы, но касающийся концептуального подхода к изложению ее результатов и выводов из нее. Живо написанное введение ярко демонстрирует актуальность проблемы, однако в нем, как мне кажется, недостает четкости в отношении двух рядов генов – выявленных на основании изучения фенотипов и на основании молекулярного анализа генов. На наличие этих рядов косвенно указывает упоминание на странице 3 «генов-кандидатов на роль *Sym2* – *Sym37* и *K1*» - ведь о генах-кандидатах говорят, когда соотносят гены, выявленные на основании фенотипа с генами, присутствующими в геноме. Известно, что первым традиционно давались символы «*Sym*» с номерами. Но в воздухе повисает вопрос –

почему гены *Sym2* и *Sym37* предположительно из двух этих рядов имеют одинаковый тип генных символов, а один из второго ряда – другой символ. Также на с. 4 имеется упоминание «двух специфических рецепторов к Nod-фактору (*Sym37* и *Sym2*)», то есть гены, упоминаемые в связи с их точной молекулярной функцией, также имеют формат «*Sym*». Возможно, во введении следовало сразу указать на наличие двух рядов генов – «классических» и «молекулярных», на общую задачу установления их соответствия и на особенности их наименований. Автор же излагает эти вещи так, как если бы читателю они были известны так же хорошо, как и ему, хотя любая проблематика генных символов как правило специфична для объекта исследования. Также несколько смущает упоминание «*LukX*, кандидата на роль *Sym2*», в формулировке такого важного сообщения, как цель работы. Сказано так, как будто кандидатство гена *LukX* является его устойчивым метафорическим атрибутом, как пышнопоножность – атрибутом ахейца. И это притом, само «кандидатство» вообще являлось промежуточным состоянием в ходе выполнения диссертационной работы – до ее начала о гене *LukX* ничего не было известно, а его генного символа на существовало, а по окончании работы он перестал быть «кандидатом», но «стал им самим», так как его тождественность *Sym2* была установлена. (На с. 3 не помешало бы слово «нашей» перед выражением «работы с ним», поскольку создается впечатление, что *LukX* был впервые выявлен кем-то до автора работы). Однако прочтение всего автореферата показывает, что автор, столь глубоко изучив молекулярную сторону дела, не только не сделал никаких шагов в сторону решения номенклатурных проблем, но, по сути, сам создал номенклатурную проблему. Вывод 5 гласит, что гены *LukX* и *Sym2* тождественны. Так какое же название следует сейчас применять для рассматриваемого гена и почему? В целях работы (с. 4) он «назван *LukX*, кандидат на роль *Sym2*», внизу той же страницы он назван «*LukX* (*Sym2*)», в выводах оба символа употребляются независимо. Насколько мне известно, в номенклатуре генов, по аналогии с номенклатурой организмов, действует правило приоритета, если комиссия по номенклатуре не делает каких-то особых постановлений по конкретным случаям. Тогда ген отныне, как и впредь, должен называться *Sym2*. Спрашивается – зачем автор вообще вводил невалидный (и к тому же совершенно непрогнозируемый!) генный символ *LukX*, если до начала работы его не существовало, а по окончании работы он не должен применяться? Работа была посвящена выяснению молекулярной природы и уточнению геномной локализации гена *Sym2*, давно известного по фенотипическому проявлению и названного, и это было с успехом сделано. Зачем же было

плодить сущности из необходимого и выносить в название работы и в выводы из нее некое внутреннее временное обозначение изучаемой последовательности?

По результатам: На с. 8 в настоящем времени излагается пройденный этап работы «то есть является перспективным кандидатом на роль *Sym2*». Работа пишется по окончании исследований, здесь было бы уместно только прошедшее время.

По выводам, которые должны быть в целом понятны без чтения работы: утверждение «Ген *LukX* является новым геном *LysM-RLK* гороха» непонятно. В каком смысле «новым геном» – новым символом, новым мутантным фенотипом, геном, недавно появившимся в геноме (введенным в геном), или новой кодирующей последовательностью, недавно выявленной в геномной (верный ответ) или транскриптомной библиотеке биоинформатическими методами? (К тому же для понимания перед *LysM-RKL* необходимо слово «семейства») В выводах два символа одного гена, *LukX* и *Sym2*, фигурируют параллельно. Создается впечатление, что выводы отражают историю мысли автора по ходу работы, тогда как они все должны быть написаны по окончании работы быть не логическим развитием друг друга, а отражать разные полученные к концу работы результаты (а они есть и легко формулируемы в окончательной форме).

Учитывая вышесказанное и невзирая на мелкие (подчеркиваю это) недостатки, считаю, что работа Сулимы А.С. соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам он достоин присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика»

ведущий научный сотрудник  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр  
Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук»,  
Новосибирск, 630090, пр. Академика Лаврентьева, д. 10

доктор биологических наук  
по специальности 03.02.07 –генетика



Костерин Олег Энгельсович

