

УТВЕРЖДАЮ



Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Институт общей  
генетики им. Н.И. Вавилова  
чл.-корр. РАН

А.М. Кудрявцев

18 августа 2022 г.

## ОТЗЫВ

**Ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук на диссертационную работу ХАФИЗОВОЙ Галины Васильевны на тему: «Особенности организации клеточной Т-ДНК у представителей рода *Nicotiana* L.» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика» в диссертационный совет Д 006.041.02, созданный на базе Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова**

### **Актуальность исследования**

Трансформация растений с помощью агробактерий на сегодня является самым простым и распространенным методом для получения трансгенных растений. Известно, что геномы ряда растений содержат последовательности агробактериального происхождения, некогда приобретенные в результате горизонтального переноса без участия человека, а такие растения называют природно-трансгенными. Изучение и сравнительный анализ клеточной Т-ДНК (далее клТ-ДНК) в различных видах растений, например, *Nicotiana*, может позволить восстановить сценарий появления и распространения Т-ДНК у данных растений и прояснить эволюционные процессы, происходившие в роду *Nicotiana*. Также анализ природно-трансгенных растений будет полезен в построении моделей «поведения» трансгенов в геномах растений на протяженных временных интервалах, что поможет оценить возможные риски возделывания ГМ культур. Исследование Хафизовой Галины Васильевны является весьма весомым вкладом в изучение клТ-ДНК у представителей рода *Nicotiana*, изучению их возможной роли и эволюции.

### **Научная новизна**

Впервые получены полногеномные данные для видов *N.glauca* и *N.noctiflora*, собранные до уровня контигов, Впервые определен состав клТДНК *N. noctiflora*: NnТ-ДНК1 содержит гомологи агробактериальных генов *iaaH*, *iaaM*, *vis*, *mis*, *orf14*, *orf13a*, *orf13*,

RolC и acs, в состав NnT-ДНК2 входят гомологи acs, C и iaaM. В составе клТ-ДНК *N. noctiflora* выявлены интактные гены - iaaM, iaaH, acs в NnТДНК1 и iaaM, acs, C в NnТ-ДНК2. Показан высокий уровень экспрессии данных генов в корнях, что согласуется с данными по другим природно-трансгенным видам, а также с паттерном экспрессии генов Т-ДНК в бородатых корнях трансформированных растений.

Анализ последовательности клТ-ДНК растений *N. Tabacum* сортов Турецкий, Ориенталь, Virginia × Berley, Брянский 91, Suifu, Black Indian, Vuelta abajo, Havana 307 показал низкий уровень полиморфизма, сопоставимый с уровнем полиморфизма гена PMT2, отвечающего за синтез никотина, что свидетельствует как о недавнем происхождении сортов, так и о прохождении видом “бутылочного горлышка” в ходе своей эволюции. У сортов Брянский 91 и Virginia × Berley показаны крупные структурные перестройки в клТ-ДНК ТА, ранее описанные для сорта Basma/Xanthi.

### **Практическая и теоретическая значимость работы**

Полученные при выполнении работе полные геномы видов *N. glauca* и *N. Noctiflora* могут быть использованы в исследованиях генетического контроля вторичных метаболитов, а также для исследований в сферах фарминдустрии и биотехнологии для изучения путей биосинтеза различных соединений, продуцируемых *N. glauca* и *N. noctiflora*.

Анализ возможных источников Т-ДНК в природно-трансгенных видах растений может позволить выявить штаммы агробактерий, которые наиболее часто трансформируют растения в дикой природе, что позволит подобрать наиболее эффективные штаммы для дальнейшего их использования в генно-инженерных работах для трансформации растений. Проведённый анализ нескольких представителей рода *Nicotiana* говорит о том, что клТ-ДНК в них является, скорее, результатом множественных актов трансформации, чем следствием распространения трансгенов между близкими видами в результате, например, переопыления. Это может быть использовано при разработке подходов по оценке возможных экологических рисков возделывания сельскохозяйственных ГМ культур.

### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа Хафизовой Галины Васильевны на тему: ««Особенности организации клеточной Т-ДНК у представителей рода *Nicotiana* L.»» выполнена на 112 страницах, иллюстрирована 25 рисунками и содержит 4 таблицы. Библиографический указатель состоит из 140 источников. Работа построена по традиционной схеме с состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждений, выводов, списка цитируемой литературы и приложения.

В разделе «Введение» автором описана основная проблематика исследования, обоснована актуальность проводимых исследований, сформулированы цель и задачи. Также отражено личное участие автора и приведена информация о публикациях и апробации работы.

Обзор литературы является компетентным введением в экспериментальную часть. В нем детально рассмотрена характеристика и вопросы видообразования рода *Nicotiana*, приведено описание природно-трансгенных видов в роду *Nicotiana*, а также характеристики *N. tabacum* – ботаническое описание, структура генома и внутривидовое разнообразие.

В разделе «Материалы и методы» диссертант с исчерпывающей полнотой описывает методы, использованные при выполнении данной работы. Эта внушительная методическая часть характеризует автора как зрелого исследователя, способного эффективно использовать большой арсенал современных молекулярно-генетических, инструментальных и теоретических методов. Использованные автором методы современны и адекватны поставленным задачам.

Структура раздела «Результаты и обсуждение» соответствует задачам, поставленным для достижения главной цели исследования, и включает два больших подраздела. В первом проведен анализ структуры клТ-ДНК представителей подрода *Petunioides*, для чего осуществлено секвенирование и сборка геномов *N. glauca* и *N. noctiflora*, а также осуществлен анализ экспрессии генов в клТ-ДНК *N. noctiflora*. Второй подраздел «Результатов и обсуждения» посвящен изучению внутривидового полиморфизма клТ-ДНК сортов *N. tabacum*, для чего был проведен сравнительный анализ последовательностей ТА и ТВ, а также анализ крупных перестроек в клТ-ДНК.

В «Выводах» подводятся итоги работы. Представленные выводы диссертации и основные положения, выносимые на защиту, обоснованы, логичны, соответствуют поставленным задачам, в полной мере отражают результат диссертационной работы.

### **Замечания**

Однако к диссертационной работе имеются следующие замечания:

1. В обзоре литературы дана достаточно подробная характеристика *N. tabacum*. В тоже в работе очень подробно анализируются геномы *N. glauca* и *N. noctiflora*. Следовало бы их характеристику также привести в обзоре литературы.
2. Непонятно почему анализ экспрессии генов в клТ-ДНК осуществлен только на растениях *N. noctiflora* и не проводился на растениях *N. glauca*.
3. На рисунке 18 приведены относительные уровни экспрессии генов клТ-ДНК *Nicotiana noctiflora*. Сравнение уровней экспрессии разных генов в одном органе/ткани совершенно бессмысленно, т.к. не несет никакой смысловой

нагрузки.

4. Нормализацию экспрессии целесообразно проводить на среднюю геометрическую трех генов «домашнего хозяйства», а не на экспрессию одного гена, для исключения ошибок, связанных с изменением экспрессии гена «домашнего хозяйства».
5. Для анализа крупных перестроек в кЛТ-ДНК использовали 2 сочетания праймеров: либо прямой праймер к последовательности orf13 в одном плече повтора (F на схеме эксперимента, рис.14) и обратный - к последовательности orf13 во втором плече (R на схеме эксперимента), либо прямой праймер к последовательности orf13 в одном плече повтора (F на схеме эксперимента) и обратный - к центральной части того же плеча (innR на схеме эксперимента). В ходе работы для каждого сорта были получены фрагменты только с одним из сочетаний праймеров, таким образом, все исследованные образцы были поделены на две группы: несущие делецию и сорта без делеции в центральном участке ТА. Однако, строго говоря, использованными комбинациями праймеров можно подтвердить наличие делеции, а для подтверждения полноразмерного, без делеций, участка ТА необходимы дополнительные контроли.

Высказанные замечания не являются принципиальными и не снижают общей высокой оценки представленной работы.

#### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат диссертации соответствует установленным требованиям и отражает основные результаты проведенных исследований. В автореферате отражены актуальность исследования, степень разработанности темы, цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, основные положения, выносимые на защиту, и полученные результаты.

#### **Апробация и сведения о полноте опубликованных работ**

Результаты исследования полностью представлены в 6 печатных работах соискателя, в том числе в 3 статьях, опубликованных в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России (журналы входят в международные системы цитирования WoS и Scopus), для соискателей ученой степени кандидата биологических наук. В опубликованных научных работах и автореферате полностью отражены основные результаты диссертации, положения и выводы. Результаты работы были представлены на множестве российских и международных конференциях

## Заключение

Диссертационная работа Хафизовой Галины Васильевны на тему: «Особенности организации клеточной Т-ДНК у представителей рода *Nicotiana L.*», выполненная под руководством доктора биологических наук Матвеевой Татьяны Валерьевны, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей научное и практическое значение для генетики.

Несмотря на высказанные замечания, считаю, что по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Хафизовой Г.В. «Особенности организации клеточной Т-ДНК у представителей рода *Nicotiana L.*», соответствует требованиям пп. 9 - 14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 в редакции с изменениями от 28.08.2017 г. №1024, 01.10.2018 №1168 и от 11.09.2021 №1539 предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика».

Отзыв ведущей организации рассмотрен на заседании Отдела генной инженерии и синтетической биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (протокол №5 от 18 августа 2022 г.).

Отзыв подготовил:

Заместитель директора по научной работе  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова  
Российской академии наук,  
заведующий лабораторией функциональной геномики  
кандидат биологических наук по специальности  
03.01.03 – молекулярная биология, доцент

Сергей Александрович Брускин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук  
119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д.3  
Сайт [www.vigg.ru](http://www.vigg.ru)  
Тел.: (499) 135-62-13, Факс: (499) 132-89-62  
Email: [iogen@vigg.ru](mailto:iogen@vigg.ru)