

Отзыв

на автореферат диссертации Ефремова Глеба Ильича
**«Анализ структурных и регуляторных генов биосинтеза каротиноидов у
культивируемых и дикорастущих видов *Solanum* секции *Lycopersicon*»**
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.7 - Генетика

Диссертационная работа Глеба Ильича Ефремова связана с одной из актуальных проблем генетики, а именно, с вопросом изучения структурно-функциональных особенностей генов метаболизма каротиноидов у растений. Следует подчеркнуть, что каротиноиды – неотъемлемая часть любой растительной системы, они являются предшественниками биосинтеза ряда фитогормонов, а также рассматриваются как ключевые участники жизнедеятельности растений при нормальных условиях жизнедеятельности и в при действии стрессовых факторов среды.

Согласно текущему мнению, крайне важно понимать особенности эволюционного преобразования метаболического пути каротиноидов, поскольку до сих пор не решен вопрос о том, гены каких ферментов играют наиболее существенную роль в данном пути и какие изменения происходят в кодирующих и регуляторных последовательностях этих генов, обеспечивающие разную количественную и качественную композицию этого класса метаболитов. Для таких исследований крайне важен выбор моделей для исследований, и соискатель останавливает свою внимание на культивируемых и дикорастущих видах *Solanum* секции *Lycopersicon*, среди которых есть растения, имеющие разную окраску плодов, и, как следствие, разную композицию каротиноидов.

Аналитическое рассмотрение диссертации позволяет заключить следующее: автором предпринята серия экспериментов, спланированных на хорошем профессиональном уровне. Глебом Ильичем использован целый арсенал классических и современных высокоразрешающих методов, применяемых в мировой практике генетических и молекулярных исследований. Впечатляет и список исследованных генов, выбранных автором как объекты для исследований – это ключевые представители метаболического пути биосинтеза каротиноидов растений.

На основе экспериментальных данных и *in silico* анализа соискателем проведен анализ первичных последовательностей ключевых генов каротиногенеза, и оценен уровень их транскрипции в различных органах, а также в динамике созревания плода у видов томата секции *Lycopersicon*. Соискателем на основе обширных экспериментальных данных убедительно доказано совместное участие генов *NCED1* и *NCED2* в процессе развития/созревания плода томата; ключевая роль отведена гену *NCED1*, наибольшая активность которого приходится на стадию смены окраски плода, а также выявлена корреляция между уровнями транскрипции гена транскрипционного фактора (ТФ) *RIN* и его генов-мишеней в динамике созревания плода красно- и зеленоплодных видов томата.

При аналитическом рассмотрении представленных в диссертационной работе материалов возникло ряд вопросов, а также ряд замечаний и пожеланий, которые могут быть учтены в дальнейших работах соискателя:

1. Вопрос о выбранных для каждого эксперимента образцах растений томатов – соискателем использована коллекция из 48 образцов томата, включающая образцы дикорастущих видов, а также сорта *S. lycopersicum* с различной окраской зрелого плода. При этом (i) биохимическая характеристика состава каротиноидов в листьях и плодах образцов дикорастущих и культивируемых видов томата проведена на **9 (для общих каротиноидов в листьях) или 11 (для каротиноидов в плодах разной спелости) образцах** (исходя из данных рисунков 1 и 2 автореферата); (ii) определение генов-гомологов фитоинсинтазы *PSY1* у сортов и видов *Solanum* секции *Lycopersicon* проведено на **9 образцах**; (iii) идентификация и структурно-филогенетическая характеристика генов-гомологов 15-цис-зета(ζ)-каротинизомеразы *Z-ISO* на **9 дикорастущих видах и 12 сортах *S. lycopersicum***, различающихся по окраске плодов; (iv) для идентификация и структурно-филогенетической характеристики генов-гомологов каротин-cis-trans-изомераз *CrtISO* и 9-цис-эпоксикаротиноид-диоксигеназ *NCED1* и *NCED2* использовано **5 образцов**; (v) экспрессия регуляторного гена *RIN* и экспрессия его генов-мишеней исследована на **4 образцах**. Не ясно на основании, каких соображений (литературные данные или иное) соискатель выбирает те или иные образцы для решения каждой из поставленных задач? И вся ли коллекция томатов (48 образцов) была использована для решения задач проведенного исследования?
2. Соискатель установил, что последовательности и структура гена *RIN* у зеленоплодных видов и эволюционно более позднего красноплодного *S. lycopersicum* одинакова, и единичные аминокислотные замены несущественны для функции регуляторного белка и активации нижележащих генов каротиногенеза. Более того и у первичных последовательностей ключевых генов каротиногенеза (*PSY1*, *Z-ISO*, *CrtISO*, *CrtISO-L1*, *CrtISO-L2*, *NCED1*, *NCED2*) также не выявлено значимых изменений, которые могли бы существенно влиять на функции данных белков, а также и в регуляторных последовательностях этих генов и, главное, в количестве и расположении CArG-бок-сайтов связывания *RIN* в промоторах регулируемых генов биосинтеза каротиноидов. При этом соискатель в заключительной части пятого вывода указывает - Предложен возможный сценарий эволюционных преобразований, способствовавший возникновению красноплодных видов томата. Тем не менее в тексте автореферата суть эволюционных преобразований не описана (эволюционные преобразования, как правило, закреплены на геномном уровне, т.е. потенциально для данного случая они могут быть закреплены в регуляторных областях гена(ов)). Известно ли какие эволюционные изменения произошли, которые и приводят к активации (а может репрессии) транскрипции генов в плодах красноплодных или зеленоплодных образцов?
3. Частая подмена термина «транскрипция» на термин «экспрессия» как в тексте работы, так и в подписях к рисункам. Транскрипция – это, безусловно, важный этап экспрессии генов, и ее эффективность вносит значительный вклад, однако транскрипция не единственный биологический процесс, определяющий преобразование наследственной информации от гена в функциональный продукт, прежде всего белок. Экспериментально доказано, что регуляция экспрессии проходит и на

уровне трансляции, и корреляция между уровнем транскрипции и трансляции не высокая.

Хотелось бы знать мнение диссертанта по этим вопросам.

Вышеперечисленные вопросы не снижают общей высокой оценки работы, исследование выполнено с использованием широкого спектра современных методов, а научная новизна и практическая значимость работы не вызывают сомнений.

В целом диссертационная работа Глеба Ильича Ефремова весьма обширна по представленным результатам, которые оформлены в рисунки. Основные положения и результаты исследований по диссертации опубликованы в 7 научных изданиях, индексируемых международной реферативной базой Web of Science. Результаты исследований диссертанта апробированы на научных форумах. В целом работа исполнена на хорошем научном уровне: проведен большой объем исследований, получены результаты и сделаны вполне обоснованные выводы.

Диссертационная работа Ефремова Глеба Ильича **«Анализ структурных и регуляторных генов биосинтеза каротиноидов у культивируемых и дикорастущих видов *Solanum* секции *Lycopersicon*»** является самостоятельным и завершенным исследованием и соответствует требованиям, изложенным в п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор без сомнений заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - Генетика

Руководитель лаборатории функциональной геномики,
Ведущий научный сотрудник
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института физиологии растений им К.А. Тимирязева
Российской академии наук,
доктор биологических наук, специальность 03.00.15. Генетика
доцент

 Ирина Васильевна Голденкова-Павлова

Адрес:
127276, Москва, Россия, улица Ботаническая, дом 35,
тел. +7 (499) 678-53-56; E-mail: irengold58@gmail.com

Подпись И.В. Голденковой-Павловой заверяю.
Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института физиологии растений им К.А. Тимирязева
Российской академии наук

 Наталья Витальевна Щербакова

«22» апреля 2024 года

