



УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
д.б.н. А.В. Мисюрин

«12» Октября 2026 г.
М.П.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук о научной и практической ценности диссертационной работы Михайловой Александры Сергеевны «Структурно-функциональная организация регуляторных генов из семейств R2R3-MYB, bHLH-MYC и WD40 биосинтеза фенольных пигментов у хлопчатника *Gossypium hirsutum* L.», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 Генетика

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа А.С. Михайловой посвящена изучению регуляторных генов биосинтеза фенольных пигментов у хлопчатника. Исследование выполнено в лаборатории постгеномных исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» под руководством доктора биологических наук Е.К. Хлесткиной.

Хлопчатник является одной из важнейших технических культур. Изучение генетических механизмов формирования природной окраски волокна имеет как фундаментальное, так и прикладное значение. Получение сортов с заданной окраской расширяет возможности использования хлопкового сырья и может упростить его химическую обработку. Практическую значимость этого направления в России подтверждает создание отечественного сорта «Браун» с природноокрашенным волокном.

Регуляция биосинтеза проантоцианидинов, связанных с формированием бурой окраски, осуществляется при участии комплекса MBW, включающего белки семейств R2R3-MYB, bHLH-MYC и WD40. В аллотетраплоидном геноме *G. hirsutum* регуляторные гены представлены паралогичными и гомеологичными копиями. Изучение структуры и эволюции этих генов, а также их аллельного разнообразия необходимо для понимания генетического контроля признака и обоснованного выбора генов-кандидатов.

Актуальность работы определяется сочетанием сравнительного исследования дуплицированных генов с анализом коллекционных образцов, различающихся по окраске волокна. Особый интерес представляет изучение поздних стадий развития волокна, на которых транскрипционная активность генов биосинтеза пигментов исследована менее подробно, чем на ранних стадиях. Цель и задачи исследования чётко сформулированы и соответствуют специальности 1.5.7 Генетика.

Структура и содержание диссертации

Диссертация изложена на 161 странице и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений, список литературы и приложения. Работа содержит 32 рисунка, одну таблицу в основном тексте и 25 приложений. Список литературы включает 286 источников.

В обзоре литературы рассмотрены эволюция и систематика рода *Gossypium*, биосинтез фенольных соединений, организация регуляторного комплекса MBW, развитие хлопкового волокна и известные механизмы формирования его окраски. Автор сопоставляет классические генетические представления с результатами современных молекулярных исследований и на этой основе обосновывает выбор объектов и постановку задач исследования.

В работе использованы поиск и сравнительный анализ последовательностей, филогенетическая реконструкция, анализ синонимичных и несинонимичных замен, анализ промоторных областей, секвенирование по Сэнгеру, моделирование структуры белков и количественная ОТ-ПЦР в реальном времени. В экспериментальной части работы использованы образцы *G. hirsutum* из коллекции ВИР, различающиеся по окраске волокна и гипокотилия.

В результате сравнительного анализа четырёх видов хлопчатника (*G. hirsutum*, *G. barbadense*, *G. arboreum* и *G. raimondii*) охарактеризованы 24 последовательности исследуемых регуляторных генов семейства R2R3-MYB, 12 последовательностей семейства bHLH-MYC и 11 последовательностей семейства WD40. Изучены хромосомная локализация и экзон-интронная структура этих генов, консервативные домены кодируемых ими белков и филогенетические связи между исследованными последовательностями.

Экспериментальное исследование включает секвенирование промоторных и кодирующих областей восьми генов семейства R2R3-MYB и промоторных областей четырёх генов семейства bHLH-MYC. Выявлены аллельные различия гена *GhMYB10-A*, связанные со светло-бурой окраской волокна в изученной выборке. Заключительный этап посвящён оценке транскрипции генов *GhDFR*, *GhANR*, *Gh4CL*, *GhMYB10-A* и *GhMYB1R1* на поздних стадиях развития волокна. Основные результаты исследования обобщены в пяти выводах.

Научная новизна полученных результатов

Научная новизна работы определяется систематическим сравнительным исследованием паралогичных и гомеологичных копий исследуемых регуляторных генов трёх семейств у диплоидных и аллотетраплоидных видов хлопчатника. Полученные данные существенно расширяют представления о структуре и эволюции генов, кодирующих исследованные компоненты комплекса MBW.

Результаты филогенетического анализа указывают на то, что дубликации исследованных генов предшествовали расхождению диплоидных эволюционных линий рода *Gossypium*. Показаны различия в степени эволюционной консервативности рассматриваемых групп генов. Выявленная высокая консервативность генов WD40 согласуется с ролью кодируемых ими белков в организации регуляторного комплекса.

К новым результатам работы относится характеристика аллельных вариантов гена *GhMYB10-A* у коллекционных образцов. У светло-бурых форм выявлены особенности промоторной

последовательности и несинонимичные нуклеотидные замены в первом экзоне, приводящие к аминокислотным заменам Лиз26Тре и Трп37Арг. Сопоставление этих данных с результатами моделирования позволило предложить гипотезу о влиянии замен на функциональную активность кодируемого белка. Полученные последовательности депонированы в международной базе данных GenBank и доступны для дальнейшего использования.

Особую научную ценность представляет исследование транскрипционной активности ключевых генов биосинтеза фенольных пигментов в период с 31-го по 41-й день после опыления. Выявлены особенности транскрипции у образцов с различной окраской, в том числе одновременное повышение уровня мРНК исследованных регуляторных генов у образца с буро-зелёным волокном. Эти результаты дополняют представления о регуляции пигментации на поздних стадиях развития волокна и служат основанием для дальнейшего изучения связи транскрипционной активности генов с метаболизмом пигментов.

Обоснованность и достоверность результатов

Обоснованность основных результатов обеспечивается сочетанием взаимодополняющих методов сравнительной геномики, молекулярной генетики и анализа транскрипции. Для поиска гомологичных последовательностей использовано несколько специализированных баз данных. Проведён анализ структуры генов, консервативных доменов кодируемых ими белков и филогенетических связей между исследованными последовательностями. Такой подход позволяет обосновать выбор объектов для экспериментального исследования.

Существенным достоинством работы является секвенирование регуляторных генов у образцов, различающихся по окраске волокна и гипокотыля. Особое внимание уделено конструированию праймеров с учётом сходства паралогичных и гомеологичных копий. Депонирование последовательностей в GenBank делает полученные данные доступными другим исследователям для сравнительного анализа и дальнейшего использования.

Следует отметить внимание автора к нормализации данных количественной ОТ-ПЦР. С использованием алгоритма geNorm проведено предварительное сравнение шести генов, рассматриваемых в качестве референсных. Для нормализации данных выбраны гены *UBQ7*, *HIS3.3* и *UBQLN1*. Исследование выполнено с использованием биологических повторностей, проведены контроль специфичности амплификации и оценка эффективности реакций. Описаны проверка условий применимости статистических критериев и порядок их выбора.

Основные выводы подкреплены сравнительным анализом последовательностей, результатами секвенирования и оценкой транскрипционной активности генов. Предположения о функциональных последствиях аминокислотных замен служат основанием для постановки дальнейших экспериментов.

Содержание диссертации и описание личного вклада показывают, что автор самостоятельно выполнила основные лабораторные исследования, анализ и обработку данных, участвовала в подготовке публикаций. Работа свидетельствует о владении автором современными методами молекулярной генетики и способности самостоятельно решать исследовательские задачи.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость диссертации состоит в расширении представлений об организации и эволюции дуплицированных регуляторных генов у аллополиплоидных растений. Сравнение генов трёх семейств позволяет оценивать различия в эволюционных ограничениях, действующих на гены, которые кодируют компоненты одного регуляторного комплекса. Сведения о гомеологичных копиях дополняют представления об особенностях эволюции генов в разных субгеномах хлопчатника.

Результаты анализа транскрипции показывают значимость поздних стадий развития волокна для изучения регуляции биосинтеза пигментов. Выявленная связь аллельных вариантов *GhMYB10-A* с окраской создаёт основу для исследования взаимодействия регуляторных факторов и вклада отдельных генов в формирование признака.

Практическая значимость работы заключается в молекулярно-генетической характеристике образцов коллекции ВИР и определении нуклеотидных последовательностей аллелей. Выявленные особенности гена *GhMYB10-A* могут служить основой для разработки и последующей проверки диагностических ДНК-маркеров, предназначенных для отбора селекционного материала. Результаты исследования также использованы в лекционных курсах магистерской программы по направлению 06.04.01 Биология Научно-технологического университета «Сириус». Результаты исследования целесообразно использовать при изучении генетического контроля окраски хлопкового волокна, характеристике коллекционных образцов, разработке подходов к молекулярной селекции хлопчатника с природноокрашенным волокном, а также при изучении эволюции регуляторных генов у аллополиплоидов.

Публикации и соответствие автореферата содержанию диссертации

Основные результаты исследования представлены в пяти статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах. Работы посвящены генетическому контролю пигментации хлопчатника, сравнительному анализу регуляторных генов, выявлению генов-кандидатов и изучению транскрипционной активности генов биосинтеза пигментов. Публикации отражают основные направления и результаты диссертационного исследования. Результаты работы доложены на десяти российских и международных научных конференциях.

Автореферат отражает основное содержание диссертации, её цель, задачи, методы, научную новизну и полученные результаты.

Замечания и вопросы

Высоко оценивая научное содержание и объём выполненного исследования, к работе можно сформулировать следующие замечания и вопросы:

1. Выявленные аллельные различия гена *GhMYB10-A* и результаты молекулярного моделирования создают основу для дальнейшего изучения его функции. Какие экспериментальные подходы автор считает наиболее перспективными для проверки влияния обнаруженных аминокислотных замен на функцию белка и подтверждения связи этих аллелей с окраской волокна на более широком наборе образцов хлопчатника?

2. Сроки отбора проб для анализа транскрипции у образцов с различной окраской волокна совпадали лишь частично. Желательно подробнее обсудить, насколько такая схема отбора проб позволяет сопоставлять сроки достижения максимальной транскрипционной активности генов у разных образцов.

3. Интерес представляет выявленное одновременное повышение уровня мРНК исследованных регуляторных генов у образца с буро-зелёным волокном. Сопоставление этих данных с результатами определения состава и содержания пигментов позволило бы дополнительно обосновать предложенную интерпретацию и уточнить вклад отдельных метаболических путей в формирование окраски.

4. Желательно подробнее описать методику датирования эволюционных событий и указать степень неопределённости полученных оценок. В приложении 16 имеются несоответствия между значениями K_a , K_s и K_a/K_s в отдельных строках, а также расхождения между итоговой строкой таблицы и основным текстом. Необходимо сверить таблицу с исходными расчётами и уточнить среднее значение K_a/K_s для исследованных генов семейства R2R3-MYB. Например,

Ген	K_a в таблице	K_s в таблице	K_a/K_s в таблице	Результат деления напечатанных K_a на K_s
GbTT2-D1	0,424	0,500	0,212	0,848
GbTT2-A2	0,427	0,546	0,233	$\approx 0,782$
GhMYB10-A1	0,385	0,975	0,375	$\approx 0,395$

5. Следовало бы дополнить таблицу с характеристикой растительного материала сведениями обо всех образцах, использованных на разных этапах исследования, включая к-8146 и к-8158. Следует унифицировать обозначения генов и устранить расхождения в номерах образцов, указанных размерах инделей и сроках отбора проб.

Высказанные замечания относятся к отдельным аспектам интерпретации и представления результатов, а также к перспективам дальнейшего развития исследования. Они не умаляют научной новизны, теоретической и практической значимости работы и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

Заключение

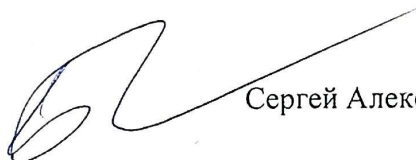
Диссертационная работа Михайловой Александры Сергеевны «Структурно-функциональная организация регуляторных генов из семейств R2R3-MYB, bHLH-MYC и WD40 биосинтеза фенольных пигментов у хлопчатника *Gossypium hirsutum* L.» является завершённой самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача, имеющая значение для генетики и геномики культурных растений. Автором охарактеризованы организация и особенности эволюции исследуемых регуляторных генов комплекса MBW у диплоидных и аллотетраплоидных видов хлопчатника, выявлены аллельные варианты перспективного гена-кандидата *GhMYB10-A*, связанные с изменчивостью окраски волокна, и получены новые данные о транскрипционной активности генов биосинтеза фенольных пигментов на поздних стадиях его развития. Сочетание сравнительного анализа с экспериментальным изучением коллекционного материала является существенным достоинством работы.

По актуальности, научной новизне, объёму и уровню выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертация соответствует требованиям пунктов 9–14 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 в действующей редакции, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор, Михайлова Александра Сергеевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 Генетика.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании межлабораторного семинара Отдела генной инженерии и синтетической биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н. И. Вавилова Российской академии наук, протокол № 10-01 от «09» октября 2026 года.

Отзыв составил заведующий лабораторией функциональной геномики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, кандидат биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, доцент

Телефон +7 905 795 3292
Email brouskin@vigg.ru



Сергей Александрович Брускин

Сведения о ведущей организации

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)
119991, ГСП-1, г. Москва, ул. Губкина, д. 3
Телефон +7 (499) 135-62-13
Электронная почта iogen@vigg.ru
Сайт <https://www.vigg.ru>