

УТВЕРЖДАЮ

ВРИО Директора Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова

д.б.н.  Ю.А. Столповский

04 марта 2019 г.



### ОТЗЫВ

**Ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук на диссертационную работу Стрыгиной Ксении Владимировны на тему: «РЕГУЛЯЦИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ У ВИДОВ ТРИБЫ TRITICEAE» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика» в диссертационный совет Д 003.011.01, созданный на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»**

Изучение молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов одно из наиболее приоритетных направлений современной генетики. В основе регуляции экспрессии генов многоклеточных организмов лежат генетические и эпигенетические механизмы контроля. К генетическим механизмам регуляция экспрессии генов можно отнести контроль транскрипции, осуществляемый различными факторами транскрипции, за счет их связывания с цис-регуляторными элементами в промоторах генов, а также за счет различных энхансеров, инсуляторов и сайленсеров. К эпигенетическим механизмам регуляция экспрессии генов относят различные модификации ДНК, РНК или гистоновых белков. Одной из самых изученных модификаций ДНК, влияющей на экспрессию генов, является метилирование ДНК по остаткам цитозина. У растений, в отличие от человека, метилирование ДНК наблюдается не только по сайтам CpG, но и на участках CpHpG и CpHpH, а контроль метилирования разных сайтов обеспечивается различными ферментами семейства метилтрансфераз.

Флавоноиды представляют разнородную группу вторичных растительных метаболитов фенольной природы и играют важную роль в процессах роста и развития растений, а также в их защите от абиотического и биотического стресса. Например, некоторые флавоноиды защищают растения от травоядных насекомых или млекопитающих, которых может отталкивать вкус, придаваемый листьям этими соединениями. С другой стороны, яркая окраска цветков растений, привлекающая насекомых-опылителей также обусловлена флавоноидными пигментами. Поскольку изменения экспрессии генов, регулирующих биосинтез флавоноидов, обуславливающих окраску растений, часто находят свое отражение в фенотипе, это делает данную группу генов удобной моделью для изучения особенностей эволюции, организации и регуляции транскрипции.

В этой связи диссертационная работа Стрыгиной Ксении Владимировны., посвященная изучению роли дублицированных копий регуляторных и структурных генов биосинтеза флавоноидов в тканеспецифичной регуляции синтеза этих соединений у видов трибы Triticeae, является весьма актуальной и своевременной.

Диссертационная работа Стрыгиной К.В., объемом 157 страниц, содержит 29 рисунков и 17 приложений, построена в полном соответствии с рекомендованной структурой кандидатских диссертационных работ и состоит из оглавления, перечня условных сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения и списка литературы, включающего 243 ссылки.

Во введении автором кратко описана основная проблематика исследования, обоснована актуальность проводимых исследований, четко сформулированы цель и задачи.

Обзор литературы является компетентным введением в экспериментальную часть. В нем детально рассмотрены различные генетические и эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов. Автор показала, как происходит регуляция экспрессии генов на уровне первичной структуры ДНК, за счет связывания факторов транскрипции с регуляторными последовательностями генов, на уровне модификации оснований геномной ДНК и гистонов, а также на уровне трёхмерной упаковки хроматина, обеспечивающей регуляцию транскрипционной активности того или иного гена. Вторая часть обзора литературы посвящена механизмам эволюции генов за счёт точечных мутаций, хромосомных перестроек, появления генов *de novo* и дубликации генов и геномов. Автор совершенно справедливо отмечает, что дубликация гена, предшествующая возникновению гена с новой функцией, считается одной из основных направляющих сил эволюции и является основным материалом для появления новых генов. Третья часть обзора



литературы посвящена флавоноидам, их разнообразию и роли в жизни и развитии растений, путям биосинтеза в растениях, а также их пользе для здоровья человека. Обзор написан достаточно хорошим языком и оформлен иллюстративным материалом.

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» диссертации соответствует задачам, поставленным для достижения главной цели исследования и условно разделен на 4 больших блока. Первый посвящен идентификации и исследованию структурной организации генов R2R3-Myb, bHLH-Myc и WD40, потенциально регулирующих синтез флавоноидов в трибе Triticeae, а также изучению их эволюции. Второй раздел посвящен анализу транскрипционной активности регуляторных генов R2R3-Myb, bHLH Myc-типа и WD40 ячменя и пшеницы, в том числе была изучена тканеспецифичность экспрессии, а также экспрессия в ходе развития растений и при ответе на стресс. Третий блок работ посвящен молекулярному картированию генов HvMyc2 и HvMrc1-H2 ячменя. Последняя часть работы посвящена характеристике паттернов метилирования цис-регуляторных районов дуплицированных генов, вовлечённых в синтез флавоноидных соединений пшеницы. В главе 4 автор обсуждает полученные результаты.

В «Заключении» работы автор еще раз сжато суммирует полученные результаты, плавно подводя к выводам. Диссертация завершается шестью выводами, которые полностью отражают полученные результаты и соответствуют поставленным задачам. Все результаты работы тщательно проанализированы и, несомненно, подтверждают обоснованность выводов, сделанных Стрыгиной К.В. в диссертации.

Научная новизна работы диссертации обусловлена тем, что впервые были получены данные об особенностях регуляции тканеспецифической экспрессии генов биосинтеза флавоноидов в трибе Triticeae, а именно среди представителей семейств R2R3-Myb, bHLH-Myc и WD40 были идентифицированы гены-кандидаты, предположительно вовлеченные в регуляцию синтеза флавоноидов. При этом представители семейства WD40, регулирующие биосинтез флавоноидов, в данной трибе были описаны впервые. Помимо этого, были продемонстрированы филогенетические взаимоотношения, а также оценены скорости эволюции представителей семейств генов R2R3-Myb, bHLH типа Myc и WD40.

Практическая значимость работы не вызывает сомнений, поскольку разработанные CAPS-маркеры к ранее неаннотированным генам HvMrc1 - H2 и HvMyc2 ячменя могут быть эффективно использованы в практической селекции для маркер контролируемого отбора генотипов ячменя при создании сортов с высоким содержанием антоцианов в зерне, а сведения об отличиях аллельных вариантов изученных регуляторных генов могут быть использованы для геномного редактирования ячменя, направленного на получение ячменя с повышенной диетической ценностью.

Однако к диссертационной работе имеются следующие замечания:

1. Большая часть работы Стрыгиной К.В. посвящена анализу экспрессии генов R2R3-Myb, bHLH-Myc и WD40 в различных органах и тканях почти изогенных линий пшеницы *Triticum aestivum* и ячменя *Hordeum vulgare*. При этом для нормализации данных использовался только один ген убиквитина в качестве гена «домашнего хозяйства». Во-первых, нигде в тексте диссертации не показано отсутствие тканеспецифичности экспрессии данного гена, а даже незначительное ее проявление может привести к искажению результатов работы. Во-вторых, данные экспрессии следует нормализовать не на один ген «домашнего хозяйства», а на среднее геометрическое трех таких генов, что позволит существенно повысить стабильность получаемых данных.

2. На стр. 66 сказано: «Анализ промоторов генов Myb (~ 600 пар оснований от стартокодона) показал, что все идентифицированные последовательности имеют множество мотивов связывания ТФ Мус- и Myb-типа, а также сайты активации транскрипции, индуцированной светом, необходимые для биосинтеза флавоноидов». Совершенно непонятно, почему за промотор принята последовательность в 600 нуклеотидов от стартокодона, а не 1000 или 1600? Также утверждение, что «все идентифицированные последовательности имеют множество мотивов связывания ТФ Мус- и Myb-типа» хоть и верно по сути, по факту лишено смысла, т.к. не доказано, что любая случайная последовательность в геноме не несет достоверно меньшее количество мотивов связывания ТФ Мус- и Myb-типа.

3. Хотя в целом диссертационная работа хорошо оформлена, а результаты проведенных исследований проиллюстрированы хорошо оформленными графиками и рисунками, тем не менее графики, приведенные на рисунке 14 не имеют подписи по оси, что затрудняет их понимание.

Высказанные в отзыве замечания не носят принципиального характера и не снижают высокой научной значимости полученных результатов.



Содержание автореферата и опубликованных автором оригинальных работ полностью отражают основные положения диссертации. Выводы конкретны, обоснованы приведенными результатами и не вызывают сомнений. В целом, диссертационная работа Стрыгиной К.В. безусловно является важным и оригинальным научным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне.

Таким образом, диссертационная работа Стрыгиной Ксении Владимировны «РЕГУЛЯЦИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ У ВИДОВ ТРИБЫ TRITICEAE» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика», по своему содержанию, уровню выполнения научных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (редакция №335 от 21.04.2016 г.), а ее автор, Стрыгина К.В., безусловно заслуживает присуждения искомой степени.

Отзыв на диссертационную работу и автореферат Стрыгиной Ксении Владимировны был рассмотрен и обсужден на заседании межлабораторного семинара ИОГен РАН. Присутствовало на заседании 18 человек. Результаты голосования: «за» - 18 человек, «против» - нет (протокол заседания №1 от 28 февраля 2019 г.).

Заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,  
Кандидат биологических наук, доцент

  
**Брускин С.А.**

Адрес организации:  
119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д.3  
Тел.: (499) 135-62-13  
Email: [iogen@vigg.ru](mailto:iogen@vigg.ru)

Электронный адрес и телефон составителя отзыва:  
Брускин С.А. [brouskin@vigg.ru](mailto:brouskin@vigg.ru), тел. +7 (499) 132 0874



04 марта 2019 г.