

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки



197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2 В
Тел./факс: +7 (812) 372-54-43, binadmin@binran.ru
ИНН 7813045480, КПП 781301001, ОГРН 1037828001199

"УТВЕРЖДАЮ"

Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Ботанического института им. В.Л. Комарова
Российской академии наук
(БИН РАН)

д.б.н. Д.В. Гельтман
29.01.2025

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук на
диссертацию ТУРНАЕВА Игоря Ивановича «Исследование эволюции белков
триптофан-зависимого пути биосинтеза ауксина у растений», представленной к
защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.7. – Генетика

Представленная к защите диссертация И.И. Турнаева изложена на 195 страницах формата А4, содержит 27 рисунков в основном тексте плюс три рисунка в приложении и 10 таблиц. Структура диссертации близка к традиционной: она состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы». Затем в диссертации идут три главы, в которых излагаются и обсуждаются результаты проведенного биоинформационного исследования, после следует глава «Заключение по диссертации», выводы, список публикаций по теме диссертации, список цитируемой литературы и приложение.

Актуальность предпринятого исследования

Во Введении автор обосновывает актуальность темы исследования, формулирует цель и задачи работы. По мнению диссертанта, актуальность исследования обусловлена несколькими обстоятельствами:

Объект исследования гены и протеины, принимающие участие в синтезе ауксина. Ауксин —самый распространенный и фундаментальный природный растительный гормон, который контролирует практически каждый аспект роста и развития растений, такой как деление клеток, удлинение, развитие плодов и старение. Он может усиливать защиту растений от абиотического стресса. Диссертант совершенно справедливо отмечает, что знание механизмов генетических механизмов биосинтеза, метаболизма и транспорта ауксина у растений крайне необходимо для понимания морфогенетических процессов, происходящих в онтогенезе растения. Вполне вероятно, что оно может позволить увеличить возможности целенаправленного контроля за ростом и развитием растений, что может стать ключевым этапом на путях создания новых высокопродуктивных и устойчивых к стрессу сортов растений. Во введении диссертант формулирует цель проведенного исследования, которая состоит в изучении молекулярной эволюции генов и белков, работающих на путях биосинтеза ауксина у растений.

В частности, диссертант поставил перед собой задачи:

- 1) Исследовать происхождение и пути эволюции генов и ферментов, работающих на путях биосинтеза триптофана;
- 2) Исследовать происхождение и пути эволюции семейства генов TAA и их продуктов;
- 3). Исследовать происхождение и пути эволюции семейства генов YUCCA и их протеинов;
- 4). Изучить роль дупликаций генов ферментов пути биосинтеза ауксина в эволюции растений.

Очевидно, что задачи, которые поставил перед собой диссертант, вполне соответствуют заявленной цели исследования. Разумность и обоснованность поставленных задач и цели исследования, актуальность и современность предпринятого диссертантом цикла работ не вызывают у нас никаких сомнений.

Анализ текста диссертации

Глава «Обзор литературы» занимает 43 страницы текста. В этой главе диссертант последовательно дает общее описание роли ауксина в жизни растений, рассматривает триптофан-независимый и триптофан-зависимый пути биосинтеза ауксина, дает общую характеристику ферментам, работающим на путях биосинтеза триптофана и ауксина, особое внимание уделяя продуктам генов семейств TAA и YUCCA. Отдельная глава посвящена путям транспорта ауксина в растениях и вопросам регуляции биосинтеза ауксина в ответ на стрессовое воздействие среды обитания. Заключительные две главы Обзора литературы тесно связаны с основной темой работы диссертанта – обзору имеющихся данных о происхождении генов, продукты которых работают на путях синтеза триптофана и ауксина и роли дупликации генов в формировании многокомпонентного комплекса генов, продукты которых связаны с синтезом и транспортом ауксина.

Завершая обзор литературы, диссертант пишет, что огромные, находящиеся в открытом доступе массивы данных, заключающих в себе аннотированные и неаннотированные последовательности полностью секвенированных геномов, транскриптомов и протеомов представителей всех филогенетических ветвей высших растений, многочисленные геномы одноклеточных водорослей и других простейших, а также геномы и транскриптомы бактерий и архей дают возможность детально исследовать происхождение генов, работающих на путях биосинтеза триптофана и ауксина у растений.

В целом, обзор литературы производит очень благоприятное впечатление, показывает, что диссертант знаком со всеми основными опубликованными источниками, касающимися генетических аспектов механизмов биосинтеза триптофана и ауксина. Отметим, что обзор литературы хорошо иллюстрирован рисунками и схемами.

К обзору литературы можно сделать два замечания. Прежде всего, из текста главы 1.2.1 Триптофан-независимый путь биосинтеза ауксина складывается впечатление, что несмотря на то, что «ряд авторов предполагали наличие у некоторых наземных растений триптофан-независимого пути синтеза ауксина (Wright et al., 1991; Normanly et al., 1993; Sztein et al., 2000; Cooke et al., 2002)» – по

мнению диссертанта, «есть лишь разрозненные данные, указывающие на возможное существование триптофан-независимого ПБА по крайней мере у некоторых групп растений, молекулярные компоненты этого пути полностью не были идентифицированы (Zhao, 2014, Wang et al., 2015)». Несомненно, основной путь биосинтеза ауксина у растений – триптофан-зависимый и, возможно, оценка состояния изученности триптофан-независимого пути биосинтеза ауксина, данная диссертантом, справедлива. И все же, неужели с 2015 года не появилось новых данных о триптофан-независимом пути биосинтеза ауксина у растений? (см., напр.: Abu-Zaitoon, Y.M., et al. "Evidence from co-expression analysis for the involvement of amidase and INS in the tryptophan-independent pathway of IAA synthesis in Arabidopsis." *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194.10 (2022): 4673-4682).

Второе замечание, касающееся Обзора литературы и текста диссертации в целом, состоит в том, что диссертант, по нашему мнению, неоправданно часто использует сокращения. Текст перенасыщен аббревиатурами типа ОРС, ПД, НПОП, ГП, ГПГ, ПБТ, БАТ и тому подобными новообразованиями. В результате при чтении диссертации постоянно встречаешься с неудобоваримыми фразами типа «..гипотеза о ГП гомологичных таа генов от нерастительных таксонов к НПОП наземных растений», «YUCCA... появились в результате ГП гена *fmo* от бактерии к НПОП наземных растений», «...ПД происходила несколько раз», «наземные растения унаследовали ПБА в результате вертикальной эволюции» и т.п.

В диссертации, как квалификационной работе, важное значение имеет глава «Материалы и методы». В диссертации И.И. Турнаева этот раздел написан тщательно и подробно. Анализ ее показывает с какой тщательностью был подобран материал для широкомасштабного изучения происхождения и эволюции генов и протеинов, работающих на путях биосинтеза ауксина в клетках растений. В целом, раздел «Материалы и методы» показывает высокий уровень профессиональной подготовки диссертанта, как генетика, работающего с использованием методов биоинформатики. Нам непонятен лишь один абзац в этом разделе. На стр. 56 диссертант пишет: «на момент начала нашей работы для генома *K. nitens* была доступна версия аннотации 1.0. Согласно этой аннотации, гомолог

генов ТАА в геноме, KpТАА, имел идентификатор kfl00051_0080. Позднее была опубликована версия аннотации генома 1.1, которая была депонирована в базу данных NCBI. В этой версии KpТАА имеет идентификатор GAQ80308.1. Последовательность GAQ80308.1 была скорректирована и содержит, в отличие от kfl00051_0080, лишь один ТАА-подобный домен. Ниже будет описан анализ последовательности kfl00051_0080, представлявшего белок KpТАА в первой версии аннотации генома» - возникает вопрос, каким образом могли бы измениться и изменились бы выводы этого раздела работы, если бы в диссертационной работе исследовалась бы «скорректированная последовательность» GAQ80308.1, а не ранняя редакция последовательности локуса kfl00051_0080? Правильно ли мы понимаем, что в этом локусе у харовой водоросли *Klebsormidium nitens* возможно нет С-концевого когезин-подобного домена?

Обратимся теперь к основной части работы – главам 3-5 диссертации. В главе 3 «Эволюция ферментов пути биосинтеза триптофана» диссертант описывает результаты сравнительного исследования аминокислотных последовательностей 7 белков, задействованных на разных этапах биосинтеза триптофана из хоризмата. Изучив протеомы красных, зелёных водорослей и наземных растений и протеомы цианобактерий, диссертант показал, что ряд генов путей биосинтеза триптофана (Asa, Asb, Igps, Tsa и Tsb) появились у общих предков красных и зелёных водорослей. Глава 4 диссертации «Происхождение и эволюция ферментов пути ТАА/YUCCA биосинтеза ауксина у наземных растений» посвящена изучению истории появления у растений генов суперсемейств ТАА и YUCCA. Несомненно, это важная и самая интересная часть работы. Диссертантом впервые показано, что ТАА-подобный белок харовых водорослей, судя по всему, не связан с синтезом ауксина. Ближайшими к белкам YUCCA наземных растений оказались две группы флавин-содержащих монооксигеназ цианобактерий. Результаты проведенного диссертантом исследования этих двух семейств белков флавин-содержащих монооксигеназ показали, что семейства белков FMO типа IIb и YUCCA не являются близкородственными, они появились у ранних наземных растений и, по-видимому, выполняют разные функции.

Глава 5 диссертации «Анализ числа копий генов ферментов пути биосинтеза ауксина» посвящена исследованию повторяемости генов, вовлеченных в процессы синтеза триптофана и триптофан-зависимого синтеза ауксина, в геномах растений. На основании расчетов, выполненных на этой стадии расследования, И.И. Турнаев приходит к выводу, что число копий в геноме отдельных генов, продукты которых задействованы на стадиях синтеза триптофана, увеличивается с увеличением сложности организмов растений.

Теоретическая и практическая значимость работы не вызывает сомнений. И.И. Турнаевым на большом фактическом материале обоснована новая гипотеза о происхождении комплекса генов, связанных с триптофан-зависимым синтезом ауксина у растений. На основе биоинформатического анализа и анализа ферментативной активности ряда бактериальных белков суперсемейства флавин-содержащих монооксигеназ показано, что путь биосинтеза ауксина при участии семейств генов TAA и YUCCA появился в эволюции у общего предка наземных растений, как результат горизонтального переноса генов от организмов, растениями не являющимися.

Результаты диссертационной работы И.И. Турнаева могут быть использованы при подготовке курсов лекций и семинаров по генетике растений, физиологии и биохимии растений, общей ботанике, эволюционной генетике.

Принципиальных замечаний и возражений по диссертации И.И. Турнаева у нас не возникло. Однако есть три вопроса, на которые желательно получить пояснения в ходе защиты.

1) Есть ли какие-либо сигналы в полностью секвенированных геномах растений, которые позволили бы сделать вывод о том, появляются ли паралоги генов семейств TAA и YUCCA и множественные копии других генов, задействованных в путях синтеза ауксина, в результате нескольких полногеномных дупликаций (WGD) и последующей утраты части дублированных копий, или они большей частью возникают в результате локус-специфичных или сегментных дупликаций?

2) В качестве индикатора эволюционной сложности организма в диссертации использован параметр FBAT - отношение количества генов белков, ассоциированных с транскрипцией, к общему числу генов, кодирующих белки в геноме. Не может ли быть так, что число генов, связанных с транскрипцией, удвоившееся после WGD, затем, при вторичной диплоидизации остальных районов генома, не уменьшается из-за того, что большая часть этих генов кодирует сложные по составу мультипротеиновые факторы транскрипции, для которых важно сохранение дозы гена каждой из субъединиц? То-есть не может-ли высокий индекс FBAT отражать, прежде всего, число прошедших актов WGD, а не «эволюционную сложность» ?

3) Если оценивать частоту повторяемости генов по разнообразию транскриптома и протеома, то как учесть влияние альтернативного сплайсинга на разнообразие пула РНК и белков и, в конце концов, на подсчет предполагаемого числа паралогов в геноме?

Текст диссертации написан хорошим языком. В работе много интересных, новых результатов и выводов. Это яркий пример исследования, выполненного высококвалифицированным генетиком, работающим в области биоинформатики.

Результаты представляемого к защите исследования опубликованы в нескольких авторитетных рецензируемых журналах и неоднократно обсуждались на представительных отечественных и международных конференциях. Положения, выносимые на защиту и определяющие выводы из работы, обоснованы полученным материалом и представляются достоверными.

Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

Актуальность и новизна предпринятого И.И. Турнаевым исследования, легшего в основу его диссертационной работы, соответствие исследования планам фундаментальных исследований и основных направлений в российской науке, корректность выводов и положений, выносимых на защиту, не вызывает никаких сомнений. Результаты этой работы уже сейчас известны специалистам-генетикам,

они цитируются в статьях и обсуждаются и, несомненно, будут востребованы в будущем.

Диссертация Игоря Ивановича Турнаева, представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика действительно является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих важное значение для развития клеточной биологии как науки, в ней впервые предложено научно обоснованное решение важной проблемы, связанной с эволюцией геномов растений, и, в частности, с эволюцией генов и белков триптофан-зависимого пути биосинтеза ауксина у растений.

Диссертация обладает внутренним единством и содержит новые, обоснованные личными наблюдениями и расчетами научные результаты и положения, свидетельствующие о личном вкладе автора И.И. Турнаева в науку. Тем самым, представленная к защите кандидатская диссертация И.И. Турнаева «Исследование эволюции белков триптофан-зависимого пути биосинтеза ауксина у растений», соответствует критериям, установленным в пунктах 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (с учетом последующих редакций), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

И.И. Турнаев заслуживает присуждения ему ученой степени кандидат биологических наук по специальности 1.5.7. – ГЕНЕТИКА.

Отзыв подготовил:

Доктор биологических наук,

главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биосистематики и цитологии БИН РАН, профессор

Подпись руки *А.В. Родионова*
ЗАВЕРЯЮ *наименование организации*
ОТДЕЛ КАДРОВ
Ботанический институт им. В.Л. Комарова
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук

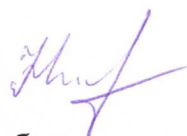
Родионов Александр Викентьевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН)

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, дом 2, литера В
тел./факс +7 (812) 372-54-43, электронная почта: Avrodionov@binran.ru

Диссертационная работа И.И. Турнаева и отзыв на нее рассмотрены,
обсуждены и одобрены на заседании семинара лаборатории биосистематики и
цитологии БИН РАН, протокол № 2 от 29 января 2025 года.

Секретарь семинара, кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник



Носов Николай Николаевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический
институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН)
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, дом 2, литера В
тел./факс +7 (812) 372-54-43, электронная почта: NNosov@binran.ru

Подпись руки Н.Н. Носова

ЗАВЕРЯЮ на основании ОК

ОТДЕЛ КАДРОВ

Ботанического института

им. В.Л. Комарова

Российской академии наук

