

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

**«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ и ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ИЦиГ СО РАН)**

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090
Телефон: (383) 363-49-80
Факс (383) 333-12-78
E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru
http://www.bionet.nsc.ru
ИНН 5408100138/КПП 540801001
ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

05.02.2016 № 15345-01-2179

На № _____ от _____

г Утверждаю



И.о. Директора ИЦиГ
СО РАН
д.б.н. Кочетов А.В.
2016 год

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

Белькова Вадима Игоревича

«Изучение ретроградной регуляции экспрессии генов

глутаматдегидрогеназы *GDH1* и *GDH2 Arabidopsis thaliana*»,

**представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности**

03.01.05-физиология и биохимия растений

Глутаматдегидрогеназа является одним из ключевых ферментов в метаболизме L-глутамата, который, в свою очередь, играет важную роль в регуляции уровня доступных форм азота и углерода в клетке растения. Ранее было показано, что экспрессия генов глутаматдегидрогеназы находится под влиянием свето-зависимых сигналов, которые усиливают экспрессию в темноте (ночью) и снижают ее на свету (днем). Причина таких суточных изменений экспрессии до сих пор не изучена, несмотря на заинтересованность различных исследовательских групп в изучении роли глутаматдегидрогеназы и генов, ее кодирующих. Последнее обстоятельство и определяет актуальность данной работы. В представленной диссертации проанализирована почасовая динамика модуляции уровня

транскриптов генов *GDH1* и *GDH2* при различных изменениях условий освещения. Столь подробный анализ динамики экспрессии этих генов был проведен впервые. В качестве механизмов для объяснения наблюдаемой динамики, автором диссертации было предложено несколько, известных к настоящему моменту, путей регуляции экспрессии: 1) сахарозависимая регуляция с участием фермента гексокиназы I и транскрипционного фактора ABI4; 2) хлоропластно-ядерные сигналы, связанные с изменением редокс-состояния пула пластохинона; 3) возможное участие активных форм кислорода. Выбор этих механизмов обусловлен всесторонним анализом как собственных результатов, так и всей совокупности данных, посвященных ретроградной регуляции экспрессии генов, а также особенностям экспрессии изучаемых генов в различных условиях.

Основные результаты, полученные в диссертационной работе, заключаются в приоритетных данных об участии конкретных регуляторных факторов (гексокиназа I, транскрипционный фактор ABI4, редокс-состояние пула пластохинона тилакоидных мембран) в светозависимой регуляции генов *GDH1* и *GDH2*, кодирующих альфа- и бета-субъединицы глутаматдегидрогеназы. Эти данные расширяют представления о механизмах регуляции метаболических процессов в растительной клетке и важны для понимания хлоропластно-ядерных взаимодействий на уровне экспрессии генов. Выяснение механизмов регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы способствует пониманию путей использования растениями молекул L-глутамата и дополняет данные о приспособлении растений к изменению условий окружающей среды.

Диссертационная работа состоит из введения, 3 разделов, выводов, списка используемой литературы и изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 31 рисунок, 2 таблицы. Список использованной литературы включает 147 наименований. Диссертационная работа написана довольно конкретно, достаточно хорошо структурирована и оформлена (есть некоторые замечания ниже), однако, восприятие изложенного материала нельзя назвать легким и требует определенных усилий, хотя это не относится к недостаткам работы, а является следствием углубленного подхода.

Тем не менее, мы считаем целесообразным высказать ряд замечаний:

1. В подразделе Введения «Теоретическая и практическая значимость работы» речь идет исключительно о теоретической значимости. Возможно практическая значимость заключается в том, что «материалы диссертации могут быть использованы в образовательных учреждениях..»? Однако, хотелось бы, чтобы этим дело не ограничилось и автор продемонстрировал бы более наглядно: как практически можно использовать полученные результаты?

2. В разделе «Обзор литературы» подраздел 1.1 имеет слишком узкое название, относящееся скорее к пункту 1.1.2.2. «Регуляция экспрессии генов ...». Также информация представленная в этом подразделе касается только экспрессии анализируемых генов у арабидопсиса и фактически дублирует то, что изложено в п. 1.1.2.2.

3. В подразделе 1.1.2 представлены данные, полученные, главным образом, на модельных арабидопсисе и табаке (который весьма близок к первому по генетике изучаемого фермента). Название же подраздела претендует на более масштабное описание. Если информации по другим растениям недостаточно, то почему бы не убрать пункт 1.1.2. вообще?

4. Кажется более логичным начинать обзор литературы с общих тем, касающихся всех растений, а затем переходить к объекту исследования. В этой связи подразделы 1.2, 1.3 следует переставить в начало, тогда как подраздел 1.1- после первых двух.

5. В разделе «Результаты и обсуждение» пункт 3.3.2.6. по сути не относится к подразделу 3.3.2. так как описывает общее физиологическое значение светозависимой регуляции *GDH1* и *GDH2*. К тому же в нем нет конкретных результатов автора. Поэтому его следует перенести в соответствующий часть обзора литературы.

6. Заключение слишком подробное. В нем много методических деталей и повторных описаний экспериментов.

Необходимо отметить, что данные замечания не снижают ценности данной работы и не ставят под сомнение сделанные в ней выводы.

Подводя итог, можно сказать, что автором проделана большая экспериментальная работа, в ходе которой использованы самые современные методы анализа, такие как, количественная ПЦР в реальном времени, экстракция и электрофорез различных белков, оценка их активности и др. Получены результаты, вносящие заметный вклад в представления о ретроградной регуляции ядерных генов и ее влиянии на биохимические и физиологические процессы, протекающие в растительной клетке. Диссертационная работа В. И. Белькова апробирована на 5 конференциях, ее материал представлен в 11 публикациях, 4 из которых- в рецензируемых журналах перечня ВАК. Результаты работы могут быть использованы в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Институте биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Институте молекулярной генетики РАН, Институте цитологии и генетики СО РАН и в ряде других научных учреждений.

Содержание работы должным образом отражено в автореферате и опубликованных работах. Выводы носят конкретный характер, соответствуют поставленным задачам и адекватно отражают полученные результаты.

Диссертация В. И. Белькова «Изучение ретроградной регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы GDH1 и GDH2 Arabidopsis thaliana», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 (физиология и биохимия растений), удовлетворяет всем предъявляемым требованиям, а сам автор несомненно достоин присуждения искомой степени.

Диссертация соответствует п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» и представляет собой научно-квалификационную работу, имеющую существенное значение для таких областей как молекулярная биология и физиология, биохимия растений.

Отзыв заслушан и утвержден на межлабораторном семинаре по генетике растений ИЦиГ СО РАН от 29. 01. 2016, протокол N° 122.

С.н.с. лаборатории
молекулярной генетики и цитогенетики
растений ИЦиГ СО РАН
к.б.н.
atos@bionet.nsc.ru
+7(383)3634951

А. Б. Щербань

Ученый секретарь
к.б.н.



Г.В. Орлов

Подпись *А.Б. Щербань, Г.В. Орлова*
удостоверяю зав.канцелярией *Ученый*
ИЦиГ СО РАН
« 05 » 02 20 16 г.