

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента на диссертацию

Белькова Вадима Игоревича

"Изучение ретроградной регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы  
GDH1 и GDH2 *Arabidopsis thaliana*"

по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений.

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

### **Актуальность темы диссертации**

Диссертационная работа Белькова В.И. посвящена исследованию закономерностей ретроградной регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы GDH1 и GDH2 *Arabidopsis thaliana*. Тема диссертации является весьма важным и актуальным, на сегодняшний день, направлением исследований, поскольку касается механизмов регуляции экспрессии генов на уровне ядро-органеллы. С появлением новых современных методов молекулярной биологии, определением нуклеотидных последовательностей полных геномов модельных организмов наметился значительный прорыв в исследованиях закономерностей функционирования генома. Однако вопросы взаимодействия и регуляции экспрессии ядерных геномов и геномов органелл остаются относительно слабо изученными. Между тем исследование этих процессов является очень важным для понимания фундаментальных закономерностей функционирования клетки, развития и эволюции живых организмов. Особое место в исследовании подобных закономерностей занимают гены растений, экспрессия которых меняется при смене степени освещенности, поскольку эти процессы свидетельствуют о влиянии ретроградных факторов на уровень экспрессии.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов, рекомендаций и заключений, полученных в диссертации, подтверждается детальным анализом современного состояния проблемы, грамотным использованием арсенала современных методов молекулярной и клеточной биологии в сочетании продуманной и хорошо организованной серией экспериментов для решения поставленной научной задачи. Для поиска потенциальных регуляторов экспрессии генов Бельковым В.И. использовались несколько генетических линий *Arabidopsis thaliana*, имеющих различные генетические дефекты. Это позволило исключить или напротив - подтвердить значимость воздействия некоторых факторов на экспрессию генов. **Достоверность** полученных результатов не вызывает сомнений. Каждый эксперимент проводился, как минимум, в трех независимых повторах, при этом регулирующее влияние некоторых факторов определялось как одномоментно, так и в динамике. Достоверность различий рассчитанных значений подтверждалась статистически. Приоритет выводов и находок автора подтвержден пятью публикациями в рецензируемых журналах. **Новизна** полученных в диссертационной работе данных очевидна. К числу наиболее значимых результатов можно отнести следующие:

1) В диссертационной работе впервые исследована почасовая динамика экспрессии генов GDH1 и GDH2 при изменении степени освещенности растений. Показана нелинейность и различия в скоростях изменений уровня представленности транскриптов.

2) Впервые исследована роль компонентов сахарозависимых регуляторов гексокиназы 1 и транскрипционного фактора ABI4. Показано, что сахарозависимая регуляция не является единственным фактором снижения транскрипции исследуемых генов на свету.

3) Установлена зависимость интенсивности транскрипции генов GDH1 и GDH2 от редокс-состояния пула пластохинона тилакоидных мембран.

**Соответствие работы требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям**

Предложенная к рецензированию работа полностью соответствует требованиям "Положения о присуждении ученых степеней".

Диссертационная работа обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и свидетельствует о личном вкладе автора в науку.

#### **Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы**

Диссертационная работа написана хорошим лаконичным языком.

Имеется обширный литературный обзор, где детально, с особой тщательностью, описано современное состояние проблемы и подчеркнуты научные вопросы, стоящие перед научным сообществом. В главе "Результаты и обсуждение" особое внимание уделено обоснованию последовательности экспериментов и объяснению причинно-следственных связей и интерпретации полученных данных.

Замечания к диссертационной работе:

1) В литературном обзоре нет главы посвященной методам исследования экспрессии генов.

2) Основным методом оценки представленности транскриптов в диссертации является ПЦР с оценкой результатов в режиме реального времени или количественная ПЦР (кПЦР). Однако, в главе "Материалы и методы" этому подходу уделено менее половины страницы. В результате остался неясным ряд вопросов проведения экспериментов. Какова длина ампликонов? Какие методы использовались для получения относительных значений флуоресценции? Использовались ли стандарты? Каковы показатели калибровочной кривой? Использовались ли повторы при постановке кПЦР?

3) Имеются редакционные недочеты. Некоторые предложения в тексте рукописи не имеют начала (стр.54 последний абзац), не закончены или повторены (стр.105 последний абзац, стр.106 первый абзац). В некоторых предложениях допускается вольность в использовании терминологии "нашего исследмаркера" (стр.94 первый абзац).

#### **Мнение о научной работе соискателя в целом**

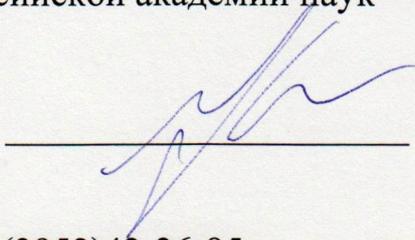
В целом, несмотря на отмеченные недостатки и замечания, представленная диссертация выполнена на высоком научном уровне и представляет собой законченную научно- квалификационную работу, выполненную на актуальную тему.

Результаты диссертационной работы, выносимые на защиту, прошли достаточную апробацию на 6 научных конференциях, в том числе международных, и опубликованы в виде 4 статей в реферируемых журналах.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Учитывая актуальность выполненных исследований, научную новизну полученных результатов считаю, что представленная диссертационная работа удовлетворяет всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор - Бельков Вадим Игоревич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент  
кандидат биологических наук, старший научный  
сотрудник лаборатории ихтиологии  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Лимнологического института  
Сибирского отделения Российской академии наук  
(ЛИН СО РАН)



Кирильчик Сергей  
Васильевич

640033, г Иркутск,  
ул. Улан-Баторская, 3; тел. (3952)42-26-95  
E-mail: kir@lin.irk.ru

"18" февраля 2016г.

Подпись к.б.н. Кирильчика Сергея Васильевича  
заверяю  
и.о. ученого секретаря ЛИН СО РАН  
к.б.н.



Максимова Наталья  
Васильевна