

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан биологического факультета академик РАН



/И.А.Тихонович/

«19» июля 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Санкт-Петербургского государственного университета по диссертации Кузнецовой Ксении Андреевны “Система *WOX-CLAVATA* и ее мишени в регуляции развития запасающего корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)”, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Актуальность темы исследования

Работа Кузнецовой К.А. посвящена изучению механизмов формирования запасающего корня - явления, на которое влияют гены, контролирующие активность латеральной меристемы - камбия, а также различные внешние сигналы и метаболические изменения. Изучение процессов деления и дифференцировки клеток у высших растений является одной из наиболее актуальных задач современной генетики развития растений. Механизмы генетического контроля латеральных меристем, в том числе вторичных, к которым относится камбий, в настоящее время активно исследуются. Одним из важнейших регуляторов активности камбия является система *WOX-CLAVATA*. Она представляет собой высоко консервативный регуляторный модуль, контролирующий поддержание стволовых клеток и различных меристем.

Вместе с тем, исследования функций модуля *WOX-CLAVATA* в развитии запасающего корня в настоящее время находятся на начальном этапе. Редис посевной (*Raphanus sativus* L.) как однолетняя культура, родственная модельному объекту генетики *Arabidopsis thaliana*, является перспективным модельным объектом для изучения генетики развития запасающего корня. Согласно данным сравнительного анализа транскриптомов, разные виды растений с запасающим корнем характеризуются изменением экспрессии одних и тех же регуляторных генов в ходе роста корнеплода, и, следовательно, механизмы развития запасающего корня могут быть сходными у разных видов. Таким образом, данные, полученные на редисе, могут быть экстраполированы на другие сельскохозяйственные культуры с запасающим корнем. Уникальной особенностью редиса является наличие генетической коллекции линий редиса СПбГУ, в которой в том числе имеются линии с аномалиями развития - в частности, с спонтанными опухолями.

Изучение генетического контроля формирования запасающего корня, в частности у редиса посевного, является актуальной задачей для современной биологии и сельского хозяйства. Работа К.А. Кузнецовой вносит вклад в изучение функций генов-регуляторов развития запасающего корня, которые могут быть использованы как мишени для геномного редактирования при создании улучшенных форм корнеплодных культур.

Научная повизна исследования

В представленной К.А.Кузнецовой работе впервые были получены сборки геномов родственных опухолеобразующей и безопухолевой линий редиса. Впервые были выявлены однонуклеотидные замены (single nucleotide polymorphism) и инсерции/делеции

(InDels; insertion or deletion of bases), различающие линии редиса, контрастные по способности к спонтанному опухолеобразованию. В полученных сборках геномов были идентифицированы гены-регуляторы развития меристем, в том числе меристем запасающего корня (гены семейств *WOX* и *CLE*), проведен анализ последовательностей соответствующих белков. Впервые был проведен транскриптомный анализ растений со сверхэкспрессией гена *RsCLE41-1*. Впервые была выявлена вероятная прямая мишень транскрипционного фактора *RsWOX4*, играющего центральную роль в контроле активности камбия – ген *RsLOG3*, кодирующий фермент биосинтеза цитокининов.

Личное участие автора в получении результатов

Вся экспериментальная работа (получение растительного материала, анализ данных секвенирования геномов, анализ данных секвенирования транскриптомов, молекулярно-биологические методы, приготовление препаратов для световой микроскопии и анализ гистологических данных) проводилась автором лично. Секвенирование ДНК и сборка до уровня контигов геномов линий редиса проводились коллегами из ВНИИСХМ (Афонин А.М., Грибченко Э.С.) и СПбГУ (Данилов Л.Г.). Секвенирование РНК проводилось на базе ресурсного центра научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий Машарским А.Э. Секвенирование образцов по Сэнгеру проводилось на базе ресурсного центра научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Романович А. Э. Участие каждого из вышеперечисленных коллег в выполнении данной работы отражено в разделе «Благодарности».

Достоверность и надежность результатов исследования

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне, а использованные методы адекватны поставленным задачам. Полученные с применением этих методов результаты строго документированы, о чем свидетельствуют представленные рисунки, схемы, таблицы с данными. Экспериментальные данные статистически проверены и обсуждены, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Работа заканчивается 7 выводами, логично вытекающими из основных материалов диссертации. Все выводы основываются на анализе и обобщении результатов работы и отражают суть проведенных исследований.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость результатов работы заключается в идентификации и анализе последовательностей генов семейств *RsCLE* и *RsWOX* редиса и изучении функций определенных представителей этих генных семейств, а также их вероятных генов-мишеней, что вносит вклад в область генетики развития растений. Секвенирование и сравнительный анализ геномов опухолевой и безопухолевой родственных линий редиса дают возможность для выявления генов-кандидатов на роль регуляторов спонтанного опухолеобразования и системного контроля деления клеток.

Практическая значимость работы заключается в том, что гены *RsWOX4* и *RsLOG3* в дальнейшем могут стать мишенями для геномного редактирования редиса, направленного на улучшение важных для сельского хозяйства признаков этой культуры.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

В опубликованных к настоящему времени статьях отражены все основные положения представленной диссертационной работы.

1. Kuznetsova, X.; Dodueva, I.; Afonin, A.; Gribchenko, E.; Danilov, L.; Gancheva, M.;

Tvorogova, V.; Galynin, N.; Lutova, L. Whole-Genome Sequencing and Analysis of 10 Tumour-Forming Radish (*Raphanus sativus* L.) Line. *Int. J. Mol. Sci.* 2024. Vol. 25. P. 6236.

2. Kuznetsova KA, Dodueva IE, Lutova LA. The homeodomain of the *Raphanus sativus* *WOX4* binds to the promoter of the *LOG3* cytokinin biosynthesis gene. *Ecological genetics.* 2024a. Vol. 22, №. 1. P. 33–46.

3. Kuznetsova K., Efremova E., Dodueva I., Lebedeva M., Lutova L. Functional Modules in the Meristems: “Tinkering” in Action. *Plants (Basel).* 2023. Vol. 12, №. 20. P. 3661;

4. Kuznetsova K., Dodueva I., Gancheva M., Lutova L. Transcriptomic Analysis of Radish (*Raphanus sativus* L.) Roots with *CLE41* Overexpression. *Plants (Basel).* 2022. Vol. 11, №. 16. P. 2163;

5. Tkachenko A., Dodueva I., Tvorogova V., Predeus A., Pravdina O., Kuznetsova K., Lutova L. Transcriptomic Analysis of Radish (*Raphanus sativus* L.) Spontaneous Tumor. *Plants (Basel).* 2021. Vol. 10, №. 5. P. 919;

6. Кузнецова К.А., Додуева И.Е., Паутов А.А., Крылова Е.Г., Лутова Л.А. Генетический контроль развития запасяющего корня. *Физиология растений.* 2020. Т. 67, №4 С. 589-605.

Ценность научных работ соискателя

Все шесть статей соискателя опубликованы в высокорейтинговых журналах, рецензируемых в базах данных WoS и Scopus.

Соответствие диссертации специальности.

Диссертационное исследование К. А. Кузнецовой “Система *WOX-CLAVATA* и ее мишени в регуляции развития запасяющего корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)” по проблематике, набору поставленных задач и используемым методам полностью соответствует специальности 1.5.7. Генетика.

Заключение

Диссертация “Система *WOX-CLAVATA* и ее мишени в регуляции развития запасяющего корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)” Кузнецовой Ксении Андреевны может быть рекомендована к защите в СПбГУ на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Профессор с возложенным исполнением обязанностей
зав. кафедрой генетики и биотехнологии СПбГУ
профессор РАН

/А.А. Нижников/

