

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Кириенко Анны Николаевны «Изучение роли рецептор-подобной киназы K1 гороха в контроле формирования симбиотических субклеточных структур», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений» и 03.02.03 – «Микробиология»

Симбиоз бобовых растений с клубеньковыми бактериями является одной из актуальных проблем современной биологии и служит объектом исследований в течение нескольких десятилетий. Несмотря на это молекулярные, физиологические и другие механизмы, предшествующие образованию азотфиксирующих клубеньков на корнях бобовых растений изучены недостаточно. Известно, что индукторами развития симбиоза между бобовыми растениями и бактериями *Rhizobiales* являются бактериальные липохитоолигосахариды – Nod-факторы. До сих пор представления о молекулярных механизмах рецепции Nod-факторов остаются далекими от полного понимания. Это определяет важность поиска рецепторов к этим сигнальным молекулам.

В связи с этим целью диссертационной работы Кириенко Анны Николаевны явилось изучение роли LysM-рецептор-подобной киназы K1 у гороха *P. sativum* L. в развитии симбиоза с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Для достижения цели работы были поставлены следующие задачи: 1) Анализ уровня экспрессии гена *K1* при развитии симбиоза с помощью метода количественной ОТ-ПЦР; 2) Выявление с помощью TILLING подхода мутантов по гену *k1* и их генотипическая и фенотипическая характеристика; 3) Комплементация мутантных генов *k1* и *sym37* с помощью полноразмерных последовательностей этих генов гороха дикого типа для проверки функциональной взаимозаменяемости; 4) Анализ способности рецептор-подобной киназы K1 формировать олигомерные комплексы с другими известными рецепторными киназами гороха *Sym10* и *Sym37* в различных гетерологичных системах (модифицированный FRET-анализ и дрожжевая двугибридная система); 5) Построение схемы работы рецепторов к Nod-факторам у гороха.

С поставленными задачами Кириенко А.Н. успешно справилась. В ходе диссертационной работы автором были получены новые результаты по выявлению закономерностей организации работы LysM-РПК гороха при развитии симбиоза с ризобиями, а именно: показано, что ген *k1* необходим для развития симбиоза у гороха. С помощью TILLING подхода выявлено 3 мутантных линии гороха 817, 885 и 2265, несущих мутации в гене *k1*. Фенотипическая характеристика мутантных линий показала, что LysM-рецептор-подобная киназа K1 необходима для инициации развития симбиоза у гороха, а также контролирует выход бактерий из инфекционных нитей. Показана возможность формирования гетероолигомерных рецепторных комплексов между LysM-РПК K1 и *Sym10*, а также *Sym10* и *Sym37* при совместном синтезе в листьях *N. benthamiana*, а также в дрожжевой двугибридной системе. Показано, рецепторы K1 и *Sym37* могут контролировать разные этапы развития симбиоза. Автором предложена новая модель функционирования рецепторов к Nod-факторам у гороха с участием нескольких рецепторных комплексов.

Научная новизна работы заключается в том, что автором была впервые изучена роль новой LysM-РПК K1 гороха в контроле развития симбиоза с клубеньковыми бактериями. Впервые были найдены с помощью TILLING подхода и фенотипически

описаны мутанты по гену *kl1*. Наличие двух мутантов с Nod-фенотипом и данные по комплементации позволили сделать вывод о том, что LysM-РПК K1 необходима для контроля развития симбиоза у гороха. Впервые у бобовых с недетерминированным типом клубеньков охарактеризован рецептор с активным киназным доменом, который в составе гетеролигомерного комплекса участвует в инициации развития симбиоза. Впервые предложена модель работы нескольких олигомерных рецепторных комплексов, участвующих в узнавании Nod-факторов у гороха.

Автором представлен разносторонний, наукоемкий материал, проделан большой объем аналитических работ. Автореферат хорошо иллюстрирован, содержит большое количество рисунков, таблиц, фотографий, в том числе электронных, схем. Статистическая обработка экспериментальных данных в представленной работе обеспечивает достоверность результатов исследований. Выводы сформулированы достаточно конкретно, полностью соответствуют задачам диссертационной работы и подтверждаются большим фактическим материалом, приведенном в автореферате диссертации.

Отличительной особенностью этого исследования является междисциплинарный характер, работа выполнена на стыке физиологии, биохимии и микробиологии с применением современных методов исследований.

Материалы диссертационной работы Кириенко А.Н. широко представлены научному сообществу на российских и международных научных конференциях, полностью отражены в автореферате, 6 научных статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах.

Считаю, что диссертационная работа Кириенко Анны Николаевны «Изучение роли рецептор-подобной киназы K1 гороха в контроле формирования симбиотических субклеточных структур», представляет собой законченную научно-квалификационную работу, результаты которой имеют научное и практическое значение, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений» и 03.02.03 – «Микробиология».

Старший научный сотрудник  
кандидат биологических наук  
лаборатории биотехнологии растений  
31.05.2018 г.



Захарченко Наталья Сергеевна

Подпись заверяю  
Начальник отдела кадров

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Филиал Института биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
142290, Пушкино, Проспект Науки, 6

E-mail: [zachar@bibch.ru](mailto:zachar@bibch.ru)

Телефоны: 8(4967)33-09-70; 8(905)527-76-78

 С.И.Биляр