





индукции автофагии в корнях проростков *Arabidopsis thaliana*, опосредованной протеинкиназой SnRK1. Гипотеза проверялась с помощью мутантных линий с пониженной экспрессией и свехэспрессией гена, кодирующего каталитическую субъединицу SnRK1 - KIN10, и была подтверждена. В совокупности полученные данные указывают на то, что в ингибировании TOR в условиях недостатка калия участвует SnRK1-киназа. Также впервые проанализирована возможная роль киназы SnRK1 – основного сенсора энергетического статуса растительной клетки – в регуляции фотохимической активности хлоропластов и синтеза АТФ на мембранах тилакоидов.

**Структура и содержание диссертации.** Диссертация изложена на 145 стр. машинописного текста, содержит 4 таблицы, иллюстрирована 27 рисунками и состоит из Введения, 4-х глав, Выводов и списка цитируемой литературы, который включает 292 источника. Работа написана правильным языком, с незначительным количеством опечаток, и аккуратно оформлена.

**Введение** убедительно показывает актуальность исследования роли регуляторных киназ TOR и SnRK1, в обеспечении роста, фотосинтетического метаболизма и стрессоустойчивости растений. Кроме того, во Введении сформулированы цель и задачи исследования.

### **Глава 1. Обзор литературы (стр. 15-56)**

Обзор литературы изложен на 42 страницах и состоит из четырех разделов. В первом разделе приводятся данные о структуре белка TOR, его доменному составу, комплексам, образованным на основе TOR и регуляция активности TORC1 растений внешними и внутренними факторами. Также, подробно рассмотрено семейство киназ SnRK: структура комплекса SnRK1 и регуляторы его активности, подсемейства SnRK2 и SnRK3. Второй раздел посвящен анализу результатов современных исследований о роли киназных комплексов TOR и SnRK1 в онтогенезе растений при благоприятных и стрессовых условиях. В третьем разделе подробно описана автофагия, ее типы, молекулярные механизмы, регуляция в клетках растений киназами TOR и SnRK1, фитогормонами и ингибиторами. Четвертый раздел посвящен анализу современного состояния литературы о роли ионов калия в метаболизме растений и в частности, цитоплазматического калия в стрессоустойчивости. Рассмотрены каналы и транспортеры  $K^+$ , которые также выступают основными регуляторами гомеостаза калия в условиях стресса.

В качестве замечания можно пожелать автору один из пунктов раздела посвятить механизмам формирования электрохимического градиента на тилакоидных мембранах хлоропластов в оптимальных и стрессовых условиях. Обнаруженная автором особенность - относительно низкая амплитуда формирующейся на свету транстилакоидной протондвижущей силы  $pmf$  у растений с повышенной экспрессией *KIN10* - смогла бы быть обсуждена более полно в том случае, если раздел об особенностях ее регуляции был бы изложен в составе главы Обзор литературы.

Из обзора литературы убедительно вытекает важность изучения регуляции взаимодействия киназных комплексов TOR и SnRK1 и влияния SnRK1 на фотосинтетические параметры. Именно в этом заключается диссертационное исследование, результаты которого представлены в соответствующей главе.



## Глава 2. Объекты и методы исследования (стр. 57-84)

В главе «Материалы и методы» приведены данные о модельном объекте *Arabidopsis thaliana*. В диссертационной работе были использованы проростки и взрослые растения дикого типа и трансгенных линий. В этом же разделе подробно описаны методы, использованные в работе. Всего их около 20. К ним относятся как методы выделения и очистки нуклеиновых кислот, и детекции уровня экспрессионной активности генов интереса, так и методы импульсной флуориметрии и флуоресцентной микроскопии. Важно отметить, что проведена большая работа по подбору и модификации методик пробоподготовки и иммуноблоттинга для получения достоверных количественных данных.

В качестве замечания можно пожелать автору более подробно написать раздел 2.2.3 «Методы работы с белками», учитывая, что первой задачей для достижения цели диссертационной работы является отработка метода иммуноблоттинга. Стоило дополнить информацией по использованным в ходе поисковой работы антителам и подбору их концентраций с приложением иллюстраций.

В целом, в работе был применен весьма широкий спектр методов и подходов, и автором продемонстрирован высокий уровень владения современными высокоточными методами молекулярной биологии, цитологии, биохимии растений и физиологии растений в целом.

## Глава 3. Результаты (стр. 85-106)

Полученные данные приводятся достаточно кратко и обсуждаются в одноименной главе. Сначала рассматриваются данные, отражающие влияние дефицита калия в среде выращивания на морфометрические показатели проростков, энергетический обмен и содержания общего белка в клетках корней проростков. Деградация белка, связанная с низким содержанием калия в среде происходила по пути автофагии. Впервые показано, что дефицит калия приводит к подавлению TOR киназы и активации автофагии через SnRK1.

Во второй части описаны данные по влиянию разного уровня активности SnRK1 на фотосинтетические параметры. Сначала рассматриваются данные изменения экспрессии генов, кодирующих каталитическую субъединицу SnRK1 *KIN10* и *KIN11* у проростков и взрослых растений, чтоб убедиться в отсутствии компенсаторного увеличения экспрессии *KIN11* для повышения активности SnRK1. Далее описаны внешние фенотипические изменения взрослых растений при солевом стрессе. Впервые изучены показатели эффективности работы Фотосистемы 2, Фотосистемы 1, АТФ-синтазы в хлоропластах и энергизованности тилакоидных мембран у растений с разным уровнем экспрессии *KIN10*. Впервые показано, что уровень активности SnRK1-киназы не приводит к изменениям содержания АТФ в проростках и изменению работы АТФ-синтазы ни в благоприятных, ни в стрессовых условиях. У растений с повышенной экспрессией *KIN10* впервые обнаружена относительно низкая амплитуда формирующейся на свету транстилакоидной протондвижущей силы  $pmf$ , что связано со снижением градиента электрического потенциала  $\Delta\psi$  и является функциональной особенностью работы электронтранспортной цепи хлоропластов линий-сверхэкспрессоров.

По данному разделу можно сделать одно общее замечание, а именно, не все иллюстрации выдержаны в едином стиле оформления. Можно отметить неудачную компоновку рисунков 18 и 19, на которых следовало бы объединить данные четырех подрисунков на одном рисунке. Фенотипические изменения листьев на рис. 21 можно было



представить подробнее для более ясного понимания тех симптомов, которые описывает диссертант.

#### **Глава 4. Обсуждение (стр. 107-112)**

Глава «Обсуждение» состоит из 2 частей, в которых, опираясь на последние литературные данные автором произведен анализ полученных результатов диссертационной работы. Украшением этого раздела работы являются схемы особенности регуляции киназы TOR уровнем клеточного калия и роли киназы SnRK1 в регуляции распределения энергии света между фотохимическими процессами и диссипацией. После этого следуют Выводы (стр. 113), полностью подтвержденные экспериментальными данными.

При общем весьма положительном впечатлении от диссертационной работы, ее объема, и точности выводов, хотелось бы обсудить некоторые вопросы:

1. Диссертантом проведена большая работа по выявлению роли хронического дефицита калия на активность TOR. Планируются ли дальнейшие исследования для определения фактора, активирующего SnRK1 в условиях дефицита калия?

2. Почему при статистической обработке данных для определения отклонения распределения полученных данных от нормального был выбран тест Барлетта, а не тест Левене?

3. Может ли SnRK2 киназа частично компенсировать дисфункцию SnRK1 киназы? В каких работах была показана или опровергнута функциональная взаимосвязь SnRK1 и SnRK2 киназ у высших растений?

4. Известны ли по литературным данным какие-либо изменения состава или структуры тилакоидной мембраны хлоропластов линий с измененным уровнем активности SnRK1? Можно ли утверждать, что полученные автором различия в регуляции функции хлоропластов связаны с изменением их состава или структуры?

5. По каким причинам в работе не использовались растения с измененным уровнем активности второй важнейшей регуляторной протеинкиназы TOR? Возможно ли, что такой подход мог бы позволить решить вопросы функциональной взаимосвязи при регуляции фотосинтетической функции?

Приведенные вопросы не подвергают сомнению новизну и оригинальность представленной диссертационной работы. Она является целостным и завершенным исследованием. Поднятые в диссертационной работе вопросы и заложенные диссертантом направления изучения мишеней хронического дефицита калия сигнального пути SnRK1 и молекулярных механизмов устойчивости растений с конститутивно высокой активностью SnRK1 представляют большой интерес и должны быть развиты в дальнейших исследованиях.


Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы. Результаты исследования были доложены А. В. Муртузовой на четырех международных и российских конференциях. Они опубликованы в 8 работах, в том числе в 3х публикациях изданий, рекомендованных ВАК РФ.

Суммируя все вышесказанное, следует заключить, что диссертационная работа Муртузовой А.В. «Роль киназных комплексов TOR и SnRK1 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

в устойчивости к дефициту калия и солевому стрессу» соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым ВАК Минобрнауки России к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а Александра Владимировна Муртузова безусловно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21 - физиология и биохимия растений.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры биохимии и физиологии клетки (протокол № 11 от 21 декабря 2023 г.).

Заведующий кафедрой  
биохимии и физиологии клетки, д.б.н., профессор



А.Т. Епринцев

Епринцев Александр Трофимович  
доктор биологических наук, профессор  
заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки  
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»  
394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1  
Тел./факс: +7 (473) 220-75-21/+7 (473) 220-87-55  
office@main.vsu.ru

