

ОТЗЫВ

**официального рецензента на диссертационную работу
Куанбай Әйгерім Құрманбекқызы на тему «Изучение роли Поли (АДФ-рибоза) полимераз *Arabidopsis thaliana* в ковалентной модификации концов разрывов в цепи ДНК *in vitro* и *in vivo*», представленную на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «БД060700 - Биология».**

№п/п	Критерии	Соответствие критериям (необходимо отметить один из вариантов ответа)	Обоснование позиции официального рецензента
1.	Тема диссертации (на дату ее утверждения) соответствует направлениям развития науки и/или государственным программам	<p>1.1 Соответствие приоритетным направлениям развития науки или государственным программам:</p> <p>1) <u>Диссертация выполнена в рамках проекта или целевой программы, финансируемого(ой) из государственного бюджета (указать название и номер проекта или программы)</u></p> <p>2) Диссертация выполнена в рамках другой государственной программы (указать название программы)</p> <p>3) Диссертация соответствует приоритетному направлению развития науки, утвержденному Высшей научно-технической комиссией при Правительстве Республики Казахстан (указать направление)</p>	<p>Диссертация соответствует направлению развития науки РК</p> <p>Диссертация выполнена в рамках научного проекта АР05131478 «Изучение роли поли (АДФ-рибоза) полимераз <i>Arabidopsis thaliana</i> в ковалентной модификации концов разрывов в цепи ДНК <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>» Министерства образования и науки Республики Казахстан на 2018-2020гг.</p>
2.	Важность для науки	Работа вносит/не вносит существенный вклад в науку, а ее важность хорошо раскрыта/не раскрыта	Диссертационная работа Куанбай Ә.Қ. посвящена выделению и характеристике кДНК генов поли(АДФ-рибоза) полимераз <i>Arabidopsis thaliana</i> и детальному изучению субстратной специфичности рекомбинантных ферментов, а также изучению роли поли(АДФ-рибоза) полимераз <i>A. thaliana</i> в ковалентной модификации разрывов цепей ДНК в условиях <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> . Так как растения постоянно подвергаются различным экзогенным и эндогенным окислительным воздействиям, это может привести к пагубным последствиям, таким как хромосомные аберрации, геномная нестабильность и гибель клеток. Таким образом, изучение сохранения целостности их

			<p>генома посредством восстановления повреждения ДНК имеет важное значение. Поли (АДФ-рибоза) полимеразы (PARP) могут оказывать значительное влияние на различные клеточные процессы, включая, репарацию ДНК. Однако, показано, что только PARP1 и PARP2 активируются в ответ на повреждения ДНК, прикрепляя остатки АДФ-рибоз от НАД+ к себе (автомодификация) и к акцепторным белкам в условиях <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>. Поэтому изучение роли поли(АДФ-рибоза) полимераз <i>A. thaliana</i> с использованием генетических мутантов дефицитных по генам PARP1 и PARP2 в ковалентной модификации разрывов цепей ДНК и детальное изучение субстратной специфичности рекомбинантных ферментов в условиях <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> является одной из актуальных задач фундаментальных исследований в молекулярной биологии.</p> <p>Актуальность темы не вызывает сомнений. В полной мере раскрывается значение диссертации, в том числе ее вклад в науку.</p>
3.	Принцип самостоятельности и	<p>Уровень самостоятельности:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) <u>Высокий</u>; 2) Средний; 3) Низкий; 4) Самостоятельности нет 	<p>Автор диссертации провел обзор литературы, определил цели и задачи темы исследования, сформулировал основные принципы защиты и провел следующие анализы: выделение нуклеиновых кислот, получение и амплификация кДНК, трансформация клеток бактерий, получение поликлональных антител, иммуноблоттинг, интерпретацию результатов, формулировку выводов.</p>
4.	Принцип внутреннего единства	<p>4.1 Обоснование актуальности диссертации:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) <u>Обоснована</u>; 2) Частично обоснована; 3) Не обоснована. 	<p>При написании докторской диссертации было процитировано 464 ссылок и идентификация ранее неизвестного явления пост-репликативной модификации ДНК с помощью ПАРилирования концов разрыва нитей ДНК в растениях обеспечит лучшее понимание механизмов иммунитета растений и стрессовых реакций, а также процессов развития растительного организма. Поэтому актуальность темы диссертации полностью обоснована.</p>
		<p>4.2 Содержание диссертации отражает тему диссертации:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) <u>Отражает</u>; 2) Частично отражает; 3) Не отражает 	<p>Содержание диссертации полностью отражает тему научного исследования</p>
		<p>4.3. Цель и задачи соответствуют теме диссертации:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) <u>соответствуют</u>; 2) частично соответствуют; 3) не соответствуют 	<p>Цель и задачи соискателя соответствуют теме диссертации.</p>
		<p>4.4 Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны:</p>	<p>Автором методически правильно определены цель и задачи исследований. Методики выполнения исследований логичны и отражают внутреннее единство полученных</p>

		<p>1) <u>полностью взаимосвязаны</u>;</p> <p>2) взаимосвязь частичная;</p> <p>3) взаимосвязь отсутствует</p>	<p>результатов. Диссертационная работа оформлена согласно требованиям и характеризуется как законченный полноценный труд. Приведенный литературный обзор соответствует избранной тематике приведенных исследований.</p>
		<p>4.5 Предложенные автором новые решения (принципы, методы) аргументированы и оценены по сравнению с известными решениями:</p> <p>1) <u>критический анализ есть</u>;</p> <p>2) анализ частичный;</p> <p>3) анализ представляет собой не собственные мнения, а цитаты других авторов</p>	<p>Идентификация ранее неизвестного явления пост-репликативной модификации ДНК с помощью ПАРирования концов разрыва нитей ДНК в растениях обеспечит лучшее понимание механизмов иммунитета растений и стрессовых реакций, а также процессов развития растительного организма. Литература, использованная при анализе диссертации показала критический анализ полученных результатов в сравнении с результатами и выводами источников.</p>
5.	Принцип научной новизны	<p>5.1 Научные результаты и положения являются новыми?</p> <p>1) полностью новые;</p> <p>2) <u>частично новые (новыми являются 25-75%)</u>;</p> <p>3) не новые (новыми являются менее 25%)</p>	<p>Автором были выделены и охарактеризованы кДНК гены поли (АДФ-рибоза) полимераз растения <i>Arabidopsis thaliana</i> и изучены их роли в ковалентной модификации разрывов цепей ДНК <i>in vitro u in vivo</i> имеет огромное теоретическое значение для понимания механизмов репарации и пострепликативной модификации геномной ДНК растений.</p>
		<p>5.2 Выводы диссертации являются новыми?</p> <p>1) полностью новые;</p> <p>2) <u>частично новые (новыми являются 25-75%)</u>;</p> <p>3) не новые (новыми являются менее 25%)</p>	<p>Научные результаты и положения являются новыми, так как соискателем впервые показано, что AtPARP1 предпочтительно модифицирует дуплексы с выступающей цепью, в меньшей степени, ДНК дуплексы с разрывом и брешью, тогда как AtPARP2 предпочитает дуплексы с разрывом и брешью по сравнению с ДНК субстратом с выступающей цепью. Установлено, что высококонсервативный остаток глутаминовой кислоты в каталитической триаде AtPARP1 и AtPARP2 необходим для проявления поли (АДФ-рибозил)ирующей ДНК активности.</p>
		<p>5.3 Технические, технологические, экономические или управленческие решения являются новыми и обоснованными:</p> <p>1) полностью новые;</p> <p>2) <u>частично новые (новыми являются 25-75%)</u>;</p> <p>3) не новые (новыми являются менее 25%)</p>	<p>Выводы, основанные на данных, полученных при комплексном подходе к решению цели и задач работы являются частично новыми и обоснованными.</p>

6.	Обоснованность основных выводов	Все основные выводы <u>основаны</u> /не основаны на весомых с научной точки зрения доказательствах либо достаточно хорошо обоснованы (для qualitative research и направлений подготовки по искусству и гуманитарным наукам)	Все полученные результаты диссертационной работы А.К.Куанбай аргументированы, обоснованы и достоверны. Обоснованность сформулированных в диссертации научных выводов не вызывает сомнения. Автором правильно подобраны используемые комплексные методы. Выводы диссертации сформулированы кратко и точно в логической последовательности. Результаты экспериментальных исследований подтверждают обоснованность и достоверность научных положений и выводов.
7.	Основные положения, выносимые на защиту	<p>Необходимо ответить на следующие вопросы по каждому положению в отдельности:</p> <p>7.1 Доказано ли положение? <u>1) доказано;</u> 2) скорее доказано; 3) скорее не доказано; 4) не доказано</p> <p>7.2 Является ли тривиальным? 1) да; <u>2) нет</u></p> <p>7.3 Является ли новым? <u>1) да;</u> 2) нет</p> <p>7.4 Уровень для применения: 1) узкий; <u>2) средний;</u> 3) широкий</p> <p>7.5 Доказано ли в статье? <u>1) да;</u> 2) нет</p>	<p>1. Диссертационная работа А.К.Куанбай состоит из 141 страниц, включающая список обозначений и сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты и их обсуждения, заключение и список использованных источников. Все положения в работе доказаны.</p> <p>2. Основные положения, выносимые на защиту не являются тривиальными.</p> <p>3. Выделена и дана характеристика кДНК генам AtPARP1, AtPARP2 и AtPARP3. Проведена функциональная экспрессия AtPARP1, AtPARP2 и AtPARP3 с гистидиновым концом в E. coli и очистка рекомбинантного белка.</p> <p>4. Уровень для применения – средний, так как тема является фундаментальной.</p> <p>5. Основные положения и результаты выполненной диссертационной работы соискателя отражены в 10 печатных изданиях местных и зарубежных журналах, в том числе, 1 статья и 2 тезиса в журналах с ненулевым импакт-фактором входящим в базу данных Web of Science или Scopus, 4 статьи в 15 республиканских научных изданиях, рекомендуемых КОКСОН МОН РК, и 3 тезиса в материалах международных конференций.</p>
8.	Принцип достоверности Достоверность источников и предоставляемой информации	<p>8.1 Выбор методологии - обоснован или методология достаточно подробно подробно описана <u>1) да;</u> 2) нет</p>	<p>Выбор методологии - обоснован, так как соискателем использовались современные методы молекулярной биологии и биохимии, такие как выделение тотальных нуклеиновых кислот; электрофорез в агарозном геле; получение кДНК гена с помощью реакции обратной транскрипции (РОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР); амплификация кДНК генов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением сайт специфических праймеров; создание рекомбинантной плазмидной конструкции; трансформация клеток бактерий; скрининг трансформантов; электрофорез белков в денатурирующих условиях в присутствии додецилсульфата</p>

			натрия; получение поликлональных антител; иммуноблотинг с поликлональными антителами; аффинная хроматография; обработка растений генотоксичными агентами.
		8.2 Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий: <u>1) да;</u> 2) нет	Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований молекулярной биологии и биохимии. Для обработки данных использовалось программное обеспечение FUJI Image Gauge V3.12.
		8.3 Теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальным исследованием (для направлений подготовки по педагогическим наукам результаты доказаны на основе педагогического эксперимента): <u>1) да;</u> 2) нет	Основные правила и выводы диссертации логически взаимосвязаны, о чем свидетельствуют результаты исследования.
		8.4 Важные утверждения <u>подтверждены</u> /частично подтверждены/не подтверждены ссылками на актуальную и достоверную научную литературу	Важные утверждения подтверждены 464 ссылками на актуальную и достоверную научную литературу на английском языке.
		8.5 Использованные источники литературы <u>достаточны</u> / не достаточны для литературного обзора	В диссертационной работе использовано 464 источников литературы и в полной мере достаточны для литературного обзора.
9	Принцип практической ценности	9.1 Диссертация имеет теоретическое значение: <u>1) да;</u>	Диссертация имеет теоретическое значение для понимания механизмов репарации и пострепликативной модификации геномной ДНК растений.

		2) нет	
		9.2 Диссертация имеет практическое значение и существует высокая вероятность применения полученных результатов на практике: 1) да; 2) нет	Результаты диссертационной работы соискателя имеют практическое значение, так как идентификация ранее неизвестного явления пост-репликативной модификации ДНК с помощью ПАРилирования концов разрыва нитей ДНК в растениях обеспечит лучшее понимание механизмов иммунитета растений и стрессовых реакций, а также процессов развития растительного организма.
		9.3 Предложения для практики являются новыми? 1) <u>полностью новые</u> ; 2) частично новые (новыми являются 25-75%); 3) не новые (новыми являются менее 25%)	Предложения для практики являются новыми, так как понимание механизмов ковалентной модификации ДНК является не только необходимым условием для улучшения устойчивости растений к различным абиотическим и биотическим стрессам, но и может помочь предотвратить нехватку продовольствия в будущем. С помощью генно-инженерных методов можно ввести в растения гены ответственные за полезные признаки за короткий период времени. Введение и сверхэкспрессия генов PARP в клетках растений может привести к значительному усилению репарации ДНК и созданию новых линий растений устойчивых к абиотическим стрессам (УФ, загрязнители воздуха, воды и почв и т.д.).
10.	Качество написания и оформления	Качество академического письма: 1) <u>высокое</u> ; 2) среднее; 3) ниже среднего; 4) низкое.	В целом диссертационная работа А.Қ.Куанбай соответствует требованиям правил присуждения степеней предъявляемым к диссертационным работам.

Диссертационная работа Куанбай Әйгерім Құрманбекқызы на тему «Изучение роли Поли (АДФ-рибоза) полимераз *Arabidopsis thaliana* в ковалентной модификации концов разрывов в цепи ДНК *in vitro* и *in vivo*», представленная на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «6D060700 - Биология» по актуальности изучаемой темы, объему, методическому решению цели и задач, научной и практической значимости соответствует требованиям «Правил присуждения степеней», предъявляемым к диссертационным работам, а ее автор заслуживает присуждения степени доктора философии (PhD).

Официальный рецензент:
PhD, и.о. доцента кафедры
Биотехнологии и Микробиологии
Евразийского национального
университета им.Л.Н.Гумилева



Курманбаева А.Б.