

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.016.01
(Д 006.027.01), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ» (МИНИСТЕРСТВО
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ)
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 23.01.2025 г. протокол № 1
О присуждении Неждановой Анне Владимировне, гражданке Российской
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Эффекты гетерологичной экспрессии генов транскрипционных факторов (*MADS-box*, *YABBY*) и редактирования генов метаболизма (*PHO1a*, *PDS*) на особенности регуляции онтогенеза *Nicotiana tabacum* и *Solanum tuberosum*» по специальности 1.5.6 – Биотехнология принята к защите 22.11.2024 г., протокол № 10, диссертационным советом 24.1.016.01 (Д 006.027.01) на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42, приказ Минобрнауки Российской Федерации № 714/нк от 02.11.2012.

Соискатель Нежданова Анна Владимировна, гражданка Российской Федерации, 04.09.1996 года рождения, в 2024 г. соискатель окончила аспирантуру Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки, с присуждением квалификации «Исследователь.

Преподаватель-исследователь».

С 2020 г. по настоящее время работает младшим научным сотрудником в группе биоинженерии растений Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Диссертация выполнена в группе Биоинженерии растений и лаборатории Системной биологии растений Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – кандидат химических наук Щенникова Анна Владимировна, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», лаборатория Системной биологии растений, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

1. Фролов Андрей Александрович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, лаборатория аналитической биохимии и биотехнологии, заведующий, главный научный сотрудник.

2. Брускин Сергей Александрович, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, лаборатория функциональной геномики, заведующий.

Выбор официальных оппонентов определялся их большим опытом в области молекулярной биотехнологии, аналитических аспектов биотехнологии, генной инженерии, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы. Официальные оппоненты дали

положительные отзывы на диссертацию. Высказаны замечания и комментарии. Замечания носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания представлены в стенограмме заседания.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, в своем положительном отзыве, утвержденном директором доктором биологических наук, академиком РАН Кочетовым Алексеем Владимировичем и составленном доктором биологических наук Дейнеко Еленой Викторовной, главным научным сотрудником, заведующей лабораторией биоинженерии растений, указала, что диссертационная работа Неждановой Анны Владимировны является законченным исследованием. По своему содержанию диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.6 – Биотехнология, а также требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, ред. от 25.01.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Результаты представленной работы важны для развития научно-обоснованной селекции растений в сельском хозяйстве с целью получения высокоурожайных, стрессоустойчивых сортов с повышенной питательной/диетической ценностью. Автор диссертационной работы, Нежданова Анна Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология. Отзыв содержит замечания дискуссионного характера. Ответ на отзыв присутствует в стенограмме заседания. Выбор ведущей организации обоснован высоким уровнем проводимых в ней исследований в области модификации геномов растений методами генетической инженерии и геномного редактирования, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Соискателем опубликовано 8 научных публикаций по теме диссертации, индексируемых в Web of Science и Scopus и рекомендованных ВАК РФ, и 14 публикаций в сборниках конференций. Наиболее значительными являются следующие публикации:

1. Nezhdanova A.V., Kulakova A.V., Slugina M.A., et al. Effect of partial knockout of the plastid starch phosphorylase gene NtPHO1-L1 on the metabolism of carbohydrates and carotenoids in *Nicotiana tabacum* L. leaves // Russian Journal of plant physiology. – 2024. – Т. 71. – №. 163.

2. Нежданова А. В., Слугина М. А., Кулакова А. В., и др. Влияние мозаичного нокаутирования гена фитоиндесатуразы NtPDS на биосинтез каротиноидов у *Nicotiana tabacum* L // Физиология растений. – 2023. – Т. 70. – №. 6. – С. 601–611.

3. Nezhdanova A. V., Efremov G. I., Slugina M. A., et al. Effect of a radical mutation in plastidic starch phosphorylase PHO1a on potato growth and cold stress response // Horticulturae. – 2022. – Т. 8. – №. 8. – С. 730.

4. Nezhdanova A. V., Kamionskaya A. M., Shulga O. A., Shchennikova A. V. Chrysanthemum SEP3-like gene CDM44 overexpression does not affect transgenic tobacco flowering, whereas enhances its tolerance to cold stress // FEBS Open Bio. – 2021. – Т. 11. – №. S1. – С. 287.

5. Slugina M., Nezhdanova A., Dyachenko E., Shchennikova A. Constitutive expression of tomato TF LeMADS5 gene in tobacco plants alters flower morphology // FEBS Open Bio. – 2021. – Т. 11. – №. S1. – С. 287.

6. Нежданова А. В., Щенникова А. В. Факторы транскрипции семейства MADS растений: связь с признаками доместикации и перспективы для селекции (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56. – №. 5. – С. 823–842.

7. Нежданова А. В., Слугина М. А., Дьяченко Е. А., и др. Структурно функциональный анализ MADS-box гена SIMADS5 томата *Solanum lycopersicum* L // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2021. – Т. 25. –

№. 5. – С. 492–501.

8. Щенникова А. В., Камионская, А. М., Нежданова, А. В., и др. Факторы транскрипции MhyFIL1 и MhyFIL3 (*Monotropa hypopitys*) определяют асимметричное развитие боковых органов надземной части растения // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23. – №. 4. – С. 405–411.

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени в работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствованных материалов или отдельных результатов без указания источника установлено не было.

На автореферат диссертации поступило 6 отзывов. Все отзывы положительные: Отзывы прислали:

1) Игнатов Александр Николаевич, д.б.н., профессор, Аграрно-технологический институт, департамент агробиотехнологии, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы». Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

2) Беляев Денис Вадимович, к.б.н., старший научный сотрудник, Лаборатория редактирования генома, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

3) Громовых Т И, д.б.н., профессор кафедры ХимБиотех, Факультет химической технологии и биотехнологии, ФГАОУ ВО «Московский политехнический университет». Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

4) Груздев Евгений Владимирович, к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория геномики микроорганизмов и метагеномики, ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

5) Комбарова Светлана Петровна, к.б.н., руководитель биотехнологического направления, АО «Институт прикладной биохимии и машиностроения». Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

6) Шульга Ольга Альбертовна, к.хим.н., ведущий научный сотрудник, Лаборатория генной инженерии растений, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии». Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

В ходе защиты соискатель дала развернутые ответы на поставленные вопросы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана концепция участия генов факторов транскрипции *YABBY* и *MADS-box* в регуляции репродуктивного развития и стрессового ответа у видов высших растений. Предложена гипотеза, объясняющая роль генов *MADS-box* в регуляции стрессоустойчивости растений их участием в контроле экспрессии генов путей метаболизма углеводов и каротиноидов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана роль исследуемых *YABBY*-генов в асимметричном развитии листьев и апикальной меристемы побега, и целевых *MADS-box* генов в спецификации органов цветка. Определена дифференциальная экспрессия генов *MADS-box* в ответ на изменение метаболизма крахмала и каротиноидов у трансгенных растений картофеля и табака с редактированной последовательностью гена крахмалфосфоорилазы *PHO1a* или гена фитоиндесатуразы *PDS*.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы: клонирования, ПЦР, ПЦР в реальном времени, секвенирования, анализа белок-белковых взаимодействий в двухгибридной дрожжевой *GAL4*-системе, агробактериальной трансформации растений табака и картофеля, CRISPR-Cas9-редактирования растений, биохимического анализа содержания метаболитов, биоинформационного сравнения и анализа

нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, дизайна праймеров, филогенетического анализа. **Изложены** факты, свидетельствующие о консервативности роли генов *YABBY* и *MADS-box* в регуляции онтогенеза растений между различными видами растений на примере табака, картофеля, томата, хризантемы, подсолнечника и поддельника. **Раскрыты** гипотезы относительно участия генов *YABBY* и *MADS-box* в определении идентичности органов цветка и устойчивости растений к стрессовым факторам. **Изучены** основы влияния гетерологичной сверхэкспрессии генов *YABBY* и *MADS-box* на развитие органов модельного растения табака. **Проведено** определение новых функций генов *YABBY* и *MADS-box* у видов высших растений.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны системы праймеров для определения последовательности и уровня экспрессии генов *YABBY* и *MADS-box*, кодирующих факторы транскрипции, от которых зависят хозяйственно ценные признаки сельскохозяйственных культур, включая сроки цветения и созревания, урожайность, качество плодов и семян, стрессоустойчивость. **Определены** перспективы практического использования данных об аллельной вариабельности и/или дифференциальной экспрессии *YABBY* и *MADS-box* генов между сортами и линиями одной культуры для поиска доноров целевых признаков в селекции улучшенных сортов. **Представлены** предложения для использования данных о вариабельности и/или дифференциальной экспрессии *YABBY* и *MADS-box* генов в научно-обоснованной селекции сельскохозяйственных культур. **Создана** коллекция трансгенных модельных растений табака с гетерологичной сверхэкспрессией ряда *YABBY* и *MADS-box* генов томата, поддельника, хризантемы и подсолнечника.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ результаты получены посредством анализа большого экспериментального материала на сертифицированном

оборудовании и высоко воспроизводимы; **теория** была построена, основываясь на опубликованных экспериментальных данных по изучению функций генов *YABBY* и *MADS-box* у видов растений; **идея базируется** на обобщении отечественных и зарубежных исследований молекулярных механизмов регуляции онтогенеза растений; **использованы** сравнение данных автора с данными, полученными ранее в работах других авторов, занимающихся изучением генов *YABBY* и *MADS-box* у видов растений. В обзоре литературы подробно описано состояние проблемы, соответствующей теме диссертации, и рассмотрены вопросы, связанные с участием генов *YABBY* и *MADS-box* в контроле развития растений, включая сельскохозяйственные культуры; **использованы** современные методики получения и обработки данных; **установлено**, что полученные результаты исследований в значительной степени дополняют информацию о функциях генов *YABBY* и *MADS-box* у видов растений.

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельном выполнении этапов работы или непосредственном участии в них с использованием подходов и методов, способствующих получению представленных данных. Автор лично анализировал полученные результаты, делал выводы и обобщения, подготавливал публикации.

Научная значимость работы заключается в том, что предложены роли для исследуемых генов *YABBY* в асимметричном развитии листьев и апикальной меристемы побега и *MADS-box* в спецификации органов цветка и стрессоустойчивости растений. Определена дифференциальная экспрессия генов *MADS-box* в ответ на изменение метаболизма крахмала и каротиноидов у трансгенных растений картофеля и табака с редактированной последовательностью гена крахмалфосфорилазы *PHO1a* или гена фитоиндесатуразы *PDS*.

Впервые: установлено, что *YABBY*-гены *MhyFIL1*, *MhyFIL3* (подбельник) и *CDM51* (хризантема) участвуют в асимметричном развитии

листьев и апикальной меристемы побега. Показано, что *MADS-box* гены *SLMADS5* (томат) и *CDM44* (хризантема) могут участвовать в спецификации лепестков и генеративных органов, *HAM45*, *HAM59* (подсолнечник) и *CDM37* (хризантема) связаны с контролем идентичности цветковой меристемы и генеративных органов, и *CDM86* и *CDM115* (хризантема) могут участвовать в спецификации лепестков и тычинок. Продemonстрировано, что *MADS-box* гены подсемейств *SEPALLATA* и *FRUITFULL* могут участвовать в регуляции стрессового ответа растений.

Результаты работы могут быть использованы для дальнейших структурно-функциональных исследований генов *YABBY* и *MADS-box* различных видов растений, в том числе сельскохозяйственных культур, для применения получаемых данных в практических биотехнологических разработках, направленных на повышение стрессоустойчивости и урожайности растений.

Диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой изложены результаты по исследованию эффектов гетерологичной экспрессии генов транскрипционных факторов *MADS-box* и *YABBY* на онтогенез модельных растений.

Соискатель Нежданова А.В. ответила на заданные ей в ходе заседания вопросы и привела аргументированные ответы.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что в диссертации:

- соблюдены критерии, установленные Положением о присуждении ученых степеней, утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;
- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;
- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования

материалов.

На заседании 23 января 2025 г. диссертационный совет принял решение за решение научной задачи, имеющей значение для развития знаний в области биотехнологии, присудить Неждановой Анне Владимировне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 10 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, участвовавших в заседании, из 10 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 10, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)



 П.Н. Харченко

Ученый секретарь

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)



Д.В. Романов

23.01.2025 года