

Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, зам. директора по научной работе СИФИБР СО РАН Боровского Геннадия Борисовича на рукопись диссертации Егоровой Анастасии Александровны **«Применение геномного редактирования для получения новых генотипов картофеля с устойчивостью к холодовому осахариванию»**, представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика

Диссертационная работа А.А. Егоровой посвящена важному и актуальному вопросу - разработке фундаментальных основ технологий, направленных на создание сортов картофеля с пониженным содержанием редуцирующих сахаров. Почему это важно и актуально? Картофель является одной из важнейших сельскохозяйственных культур мира и нашей страны. В умеренном климате урожай картофеля собирают осенью и при хранении клубни лежат при низких температурах (4–6 °С). При этом происходит распад крахмала на редуцирующие сахара, т.е. происходит так называемое холодовое осахаривание. При ряде обработок при приготовлении продуктов редуцируемые сахара вступают в реакцию Майяра, что приводит к потемнению, появлению горечи и ухудшает потребительские качества продуктов. Генетические основы процесса осахаривания, в основном, известны, однако процесс селекции картофеля весьма непрост из-за полиплоидной природы вида и высокой гетерозиготности сортов. Возможным решением проблемы является использование современных методов редактирования генома растений. Модификация генов-мишеней с помощью редактирования генома уже используется в мире для получения растений с новыми свойствами. Метод позволяет целевым образом изменять гены и улучшать свойства культур. У картофеля редактирование генома

применяли для модификации отдельных генов в отношении некоторых сортов, причем выбирали сорта, легко поддающиеся модификациям. Для российских сортов картофеля протоколы получения и анализа генетически отредактированных растений, пока не отработаны. Важно, что ранее полученные растения модельных сортов практически не используются в дальнейшей селекции. Таким образом, при том, что фундаментальные основы решения проблемы холодового осахаривания картофеля намечены, до практической реализации пока еще далеко.

Поставив целью работы, «разработку стратегии использования технологии геномного редактирования для получения генотипов картофеля с повышенной устойчивостью к холодовому осахариванию на базе сортов, районированных в Российской Федерации», автор далее корректно сформулировал задачи, вытекающие из поставленной цели.

В ходе исследования ряд данных были получены **впервые**. Так впервые выявлены различия в паттернах транскрипции генов *Pain-1* и *Inh2* в клубнях сортов Никулинский, Невский, Симфония, что подтверждает генотип-зависимый характер регуляции холодового осахаривания. Впервые продемонстрирована способность векторной системы CasCADE, позволяющей создавать мультиплексные конструкции, вносить мутации в геном картофеля. Продemonстрировано соответствие параметров работы векторной системы на протопластах и при получении растений с помощью агробактериальной трансформации, что говорит о желательности предварительного тестирования систем геномного редактирования на протопластах. Была показана корреляция между степенью снижения уровня редуцирующих сахаров в клубнях при хранении на холоде и количеством нокаутированных копий гена *Pain-1* в сорте Симфония, что важно для селекции картофеля по степени выраженности признака устойчивости к холодовому осахариванию. Впервые также показано повышение транскрипции генов нейтральной инвертазы *Ninv5* и сахарозсинтазы *Sus4* в

корнях растений картофеля, нокаутных по гену *Pain-1*, что позволяет предположить компенсаторный эффект данных генов. Изложенными выше данными, подтверждается новизна данной работы.

Результаты исследования прошли хорошую апробацию. Основные результаты работы представлены на авторитетных международных конференциях: VI Международной научной конференции «Генетика, Геномика, Биоинформатика и Биотехнология растений (PlantGen 2021)» (Новосибирск, 2021), VII Международной научной конференции «Генетика, Геномика, Биоинформатика и Биотехнология растений (PlantGen 2023)» (Казань, 2023), Международном конгрессе “CRISPR-2023” (Новосибирск, 2023). По материалам диссертации опубликовано 2 статьи в рецензируемых журналах из перечня ВАК, входящих в Международные базы цитирования (WoS, Scopus), а также глава в монографии.

Диссертационная работа изложена на 137 стр. машинописного текста, состоит из введения, включающего цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, практическую значимость работы, обзора литературы, методической части, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Список литературы состоит из 156 источников.

В целом, можно отметить, что работа аккуратно оформлена, материал изложен последовательно и логично, графический материал представлен наглядно. Методы статистической обработки применены корректно. При обсуждении результатов проведен анализ полученных данных и сопоставление с имеющимися литературными данными.

После **Введения**, которое описано выше идет **Обзор литературы**, в котором автор излагает свои взгляды на современное состояние дел по теме диссертации, опираясь на научную литературу. В заключении данного раздела автор формулирует этапы исследования. Далее в рукописи идет раздел с описанием **материалов и методов исследования**. Этот раздел не

вызывает замечаний. В Главе 3 изложены **результаты и их обсуждение**. Этот раздел, описывающий результаты, не вызывает нареканий, очень интересен и содержит новые данные о создании генетических конструкций для нокаута гена *Pain-1*, анализа эффективности их работы, о получении растений с нокаутом по этому гену и результатом в виде снижения содержания редуцирующих сахаров. Важным достоинством работы и данного раздела является то, что автор исследовал некоторые неожиданные физиологические последствия нокаута гена *Pain-1*, в частности влияние на ростовые параметры. Рассмотрены также и селекционные перспективы редактированных растений.

В **заключении** автор кратко рассматривает сделанную работу, ее теоретическое и прикладное значение и подводит читателя к выводам. **Выводы**, представленные в диссертации сформулированы достаточно кратко, корректно и обоснованы собственными данными автора, а также анализом имеющейся научной литературы.

В ходе чтения работы возникло несколько важных **вопросов**, которые хотелось бы задать автору. Автор пишет, что «Инвертазы осуществляют необратимый гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы. Они связаны с метаболизмом углеводов и играют важную роль не только в росте и развитии растения, но и в защитных механизмах». Однако в работе прямо не исследовались упомянутые защитные механизмы и влияние на них генетического редактирования или нокаута гена *Pain-1*. Между тем это важный аспект работы, влияющий на понимание перспектив данного научного результата. Есть на этот счет литературная информация или информация из работ, ведущихся параллельно в институте?

В разделе 3.7. автор показывает, что нокаут целевого гена *Pain-1* позволяет достичь биохимических целей работы - снижения содержания редуцирующих сахаров в клубнях при хранении и светлой окраске чипсов. Далее мы видим, что нокаут целевого гена *Pain-1* не оказывает выраженного

влияния на ростовые параметры, что тоже хорошо для перспектив практического использования редактированных растений. К сожалению, остался неисследованным вопрос, влиял ли нокаут гена *Pain-1* на устойчивость растений к биотическим, например, фитофторе, факторам или абиотическим стрессам – холоду, засухе, жаре и т.п. хотя бы к каким-то из них.

В работе не приведены сведения о наследуемости признака устойчивости к холодовому осахариванию клубней в семенном поколении. Возможно, на момент написания эта информация еще не была известна, есть ли она сейчас?

Также хотелось бы знать сколько нокаутных аллелей нужно иметь в геноме, чтобы снижение редуцирующих сахаров стало существенным. Вероятно, что это показатель, зависящий от сорта, но каковы примерные границы количества таких аллелей?

Анализ всей диссертационной работы позволяет говорить о том, что автор – сформировавшийся исследователь, способный к планированию, проведению сбора и обработке экспериментального материала, а также к теоретическому анализу полученных данных. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Материалы диссертации имеют теоретическую и практическую значимость, часть материалов может быть включена в учебные программы биологических и генетических специальностей.

Аннотация отражает основное содержание диссертации, содержит информацию о новизне полученных данных, степени апробации результатов, теоретической и практической значимости работы.

В целом работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2012 г. (в текущей редакции), а ее автор, Егорова Анастасия

Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика

23 октября 2025 г.

Зам. директора по научной работе
СИФИБР СО РАН, д.б.н., профессор



Г.Б. Боровский

Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (СИФИБР СО РАН).

664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, СИФИБР СО РАН

Тел: +7 (3952) 425951

E-mail: borovskii@sifibr.irk.ru



Подпись Г.Б. Боровского
ЗАВЕРЯЮ
Начальник отдела кадров
Авксентьева И.Р.
23.10.2025