

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И
ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 12 ноября 2025 г. №21

О присуждении Егоровой Анастасии Александровне

(гражданка РФ)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Егоровой А.А. «Применение геномного редактирования для получения новых генотипов картофеля с устойчивостью к холодовому осахариванию» по специальности 1.5.7. – генетика, принята к защите 27.08.2025 г. (протокол № 11). Диссертационным советом 24.1.239.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (ИЦиГ СО РАН) (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет 24.1.239.01 (Д 003.011.01) утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Егорова Анастасия Александровна, 03 февраля 1995 года рождения, в 2019 году окончила Факультет естественных наук Новосибирского государственного университета с присуждением степени магистра по направлению подготовки «06.04.01 Биология». В 2023 году

окончила очную аспирантуру НГУ по направлению подготовки «06.06.01 Биологические науки». В настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории молекулярной фитопатологии ИЦиГ СО РАН.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории генной инженерии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения российской академии наук», г. Новосибирск.

Научный руководитель – Кочетов Алексей Владимирович - доктор биологических наук, академик РАН, заведующий лабораторией генной инженерии, директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. Боровский Геннадий Борисович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории физиологической генетики ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук», г. Иркутск.

2. Ганчева Мария Семеновна, кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры генетики и биотехнологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Университет», г. Санкт-Петербург.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург, в своём положительном отзыве, подписанном кандидатом биологических наук, ведущим научным сотрудником, и.о. заведующего лабораторией постгеномных исследований, Швачко Наталией Альбертовной, и утвержденном и.о. директора ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт

генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», кандидатом биологических наук, Ухатовой Ю.В., указала, что «...диссертация Егоровой А.А. представляет собой оригинальную, завершённую научно-квалификационную работу, выполненную на высоком методическом уровне, с применением комплекса методов: от полевых и *in vitro* до современных молекулярно-генетических биотехнологических методов. Результаты данной работы обладают высокой степенью научной новизны, достоверность результатов не вызывают сомнения, выводы полностью соответствуют результатам эксперимента. Полученные результаты имеют как теоретическое, так и прикладное значение для использования в селекции картофеля. По материалам диссертации автором опубликовано две статьи в рецензируемых журналах и одна глава в монографии. Результаты были представлены на трех российских и международных конференциях. На основании изложенного считаем, что диссертационная работа Егоровой Анастасии Александровны «Применение геномного редактирования для получения новых генотипов картофеля с устойчивостью к холодовому осахариванию» полностью отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемых к кандидатским диссертационным работам, а ее автор, Егорова Анастасия Александровна, несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - Генетика. Отзыв заслушан и утвержден на расширенном заседании лаборатории постгеномных исследований ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) протокол от «20» октября 2025 г. № 9.»

Соискатель имеет всего 28 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 6 работ, общим объемом 50 страниц, из них две статьи в рецензируемых научных изданиях (WoS, Scopus), 1 главу в

монографии, 3 тезиса в материалах всероссийских и международных конференций. Во всех опубликованных по теме диссертации работах соискатель выступала первым автором, и ее личный вклад был определяющий. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. **Егорова А.А.**, Сабоиев И.А., Костина Н.Е., Куваева Д.Д., Щербань А.Б., Ибрагимова С.М., Салина Е.А., Кочетов А.В. Генотип-специфические особенности регуляции процесса холодового осахаривания клубней картофеля. // Молекулярная биология. – 2023. – Т. 57. – № 2. – С. 197-208. – DOI 10.31857/S0026898423020064 (Перевод: Egorova A.A., Saboiev I.A., Kostina N.E., Kuvaeva D.D., Shcherban A.B., Ibragimova S.M., Salina E.A., Kochetov A.V. Genotype-Specific Features of Cold-Induced Sweetening Process Regulation in Potato Varieties Nikulinsky, Symfonia, and Nevsky. // Molecular Biology. – 2023. – Vol. 57. – No. 2. – P. 197-208. – DOI 10.1134/S0026893323020061)

2. **Egorova A.A.**, Zyкова T.E., Kostina N.E., Saboiev I.A., Koloshina K.A., Filipenko E.A., Hoffie I., Hertig C., Hiekel S., Kumlehn J., Kochetov A.V., Gerasimova S. V. Reduction in Cold-Induced Sweetening by Cas9 Endonuclease Mediated Knockout of the POTATO VACUOLAR INVERTASE 1 Gene in the Cultivar ‘Symfonia’. // Potato Res. – 2024. – DOI 10.1007/s11540-024-09800-6

На диссертацию и автореферат поступило 10 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

1) Самарина Л. С., – к.б.н., старший научный сотрудник отдела биотехнологии ФГБУН ФИЦ СЦ РАН, г. Сочи. Есть замечания: «Рис 1а – звездочками указано различие с контролем, а различия между сортами отсутствуют? Возможно, стоило применить тест Тьюки для оценки множественных различий, как на рисунках Б и В. Рис 6. – диаграмма трудна к восприятию, лучше разделить на две отдельные вертикальные диаграммы

или боксплоты, отражающие разброс. Также, не хватает показателя «содержание крахмала». Используемое слово «ведра» не совсем корректно. Можно переформулировать как «закрытый грунт» или «Вариант 1», «Вариант 2».

2) Малюкова Л.С. – д.б.н., профессор РАН, главный научный сотрудник ФГБУН, ФИЦ СИН РАН, г. Сочи.

3) Монахос С.Г., д.с.-х.н., профессор, заведующий кафедрой молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева и Эйдлин Я.Т., ассистент кафедры молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева г. Москва. Есть замечания: *«Отсутствие генетического мониторинга в ряду как генеративного поколения, так и вегетативного, это ключевой вопрос генетической стабильности полученного материала. По результатам оценки массы клубней у образцов линий выращенных в ведрах было бы целесообразно провести оценку хозяйственно ценных признаков в условиях открытого грунта, где можно было бы подтвердить отсутствие негативных эффектов модификации.»*

4) Матвеева Т.В. – д.б.н., доцент, профессор кафедры генетики и биотехнологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Университет», г. Санкт-Петербург. Есть замечания: *«1) Из текста первого положения, выносимого на защиту, не понятно о положительной или отрицательной корреляции идет речь. 2) Необходимо более внимательно относиться к оформлению рисунков, их легенд и подрисуночных подписей. Так на рисунке 6 условия проведения эксперимента обозначены как «ведра» и «аэропоника», приведены номера линий, но не указано количество нокаутированных аллелей в них. Все это приходится искать в тексте автореферата на разных страницах, что затрудняет восприятие информации.»*

5) Кулуев Б. Р. – д.б.н., заведующий лабораторией геномики растений

ИБГ УФИЦ РАН, г. Уфа.

6) Большешапова Н.И. – к.с.-х.н., заведующий лабораторией «Селекционно-генетический центр», старший преподаватель кафедры земледелия и растениеводства ФГБОУ ВО Иркутского ГАУ имени А.А. Ежевского, п. Молодежный, Иркутская обл.

7) Антонова Е. В. – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории популяционной радиобиологии ИЭРиЖ УрО РАН, г. Екатеринбург. Есть замечания: *«Соискательницей были сформулированы шесть задач, в то же время положений, выносимых на защиту, только два. Фактически второе Положение включает в себя сразу несколько задач. Целесообразнее было бы раскрыть его глубину и вынести в Положения информацию о выборе сорта для нокаута гена *Rain-1*, создании конструкций для нокаута гена *Rain-1*, анализ эффективности мутагенеза гена *Rain-1* на протопластах картофеля, получение растений картофеля с нокаутом по гену *Rain-1*, оценку влияния нокаута гена *Rain-1* на содержание редуцирующих сахаров в клубнях и ростовые параметры, а также оценку перспектив использования полученных генетических линий в качестве доноров для селекции. Кроме того, разделы автореферата и подразделы 3.6 и 3.7 диссертационной работы имеют броские названия, которые иногда используется для привлечения внимания к статье. При всей строгости изложения автореферата диссертации эти названия выбиваются из общего стиля.»*

8) Рогозина Е.В. – д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов картофеля ФГБНУ ВИР, г. Санкт-Петербург. Есть замечания: *«1. в Положениях, выносимых на защиту, следует исправить формулировку «Количество функциональных аллелей гена *Rain-1* у тетраплоидного сорта картофеля Симфония...» на «Количество нокаутированных аллелей гена *Rain-1* у отредактированных линий сорта картофеля Симфония....» поскольку каждый сорт картофеля - это уникальный генотип, у которого за счет вегетативного размножения количество аллелей каждого гена является величиной постоянной.»*

2. на стр. 5 в разделе Анализ фенотипа генетически отредактированных растений следует использовать название параметра «высота растения», а не «рост растения».

9) Афанасенко О.С. – д.б.н., профессор, Академик РАН, заведующий лабораторией иммунитета растений к болезням ФГБНУ ВИЗР, г. Санкт-Петербург.

10) Эльконин Л.А., д.б.н., главный научный сотрудник отдела биотехнологии ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока», г. Саратов. Есть замечания: *«К сожалению, в автореферате нет указаний на то, как определяли наличие или отсутствие трансгенных конструкций у полученных линий и гибридов. Данные по проявлению ростовых параметров желательно было бы привести более подробно (в виде таблицы), поскольку эти данные неразрывно связаны с перспективами использования полученных линий в селекции, но, видимо, ограниченные размеры автореферата не позволили это сделать.»*

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оба оппонента являются компетентными специалистами в области генетики растений и/или биотехнологии растений, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих учреждений в области генетики и селекции растений, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что нокаут аллелей гена вакуолярной инвертазы *Pain-1* снижает уровень редуцирующих сахаров в клубнях картофеля сорта Симфония – высокогетерозиготной автотетраплоидной культуры во время хранения клубней при температуре 4°C, способствуя тем самым повышению их устойчивости к холодовому осахариванию.

Высказана оригинальная гипотеза о возможном компенсаторном эффекте повышенной экспрессии генов метаболизма сахаров *Ninv5* и *Sus4* на

рост корней растений картофеля с нокаутом по гену *Pain-1*.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что впервые изучены особенности экспрессии генов вакуолярной инвертазы *Pain-1* и ее ингибитора *Inh2* у районированных в Российской Федерации сортов картофеля Никулинский, Невский и Симфония, что позволило выявить наличие генотип-зависимого контроля уровня редуцирующих сахаров во время хранения клубней растений при температуре 4°C.

Показано, что нокаут гена *Pain-1* у сорта Симфония снижает содержание редуцирующих сахаров в клубнях картофеля во время их хранения при температуре 4°C пропорционально числу нокаутированных копий гена *Pain-1*, но не оказывает выраженного влияния на рост и продуктивность генетически модифицированных линий сорта Симфония.

Впервые показано, что в корнях растений картофеля с нокаутом гена *Pain-1* повышен уровень транскрипции генов *Ninv5* и *Sus4*, кодирующих ферменты метаболизма сахаров, важных для роста и развития растений.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны методические подходы к использованию векторной системы CasCADE для редактирования генома тетраплоидных растений картофеля и получения на этой основе генотипов растений с повышенной устойчивостью к холодовому осахариванию на базе сортов, районированных в Российской Федерации.

Полученные в ходе выполнения работы линии картофеля сорта Симфония, генетически модифицированные и устойчивые к холодовому осахариванию, а также их нетрансгенные гибриды F₁ с сортом Гала, могут представлять интерес для селекционеров как доноры признака устойчивости к холодовому осахариванию.

Разработанные конструкции на основе системы CasCADE, а также методы трансформации протопластов и агробактериальной трансформации сорта Симфония пригодны для модификации других генов, применимы для мутагенеза других сортов картофеля и могут быть использованы

заинтересованными исследователями.

Данные, полученные в диссертационной работе, представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического и сельскохозяйственного направления, связанных с изучением молекулярно-генетических механизмов устойчивости к холодовому осахариванию картофеля, при решении практических задач по получению генетически отредактированных растений картофеля, а также в образовательном процессе при чтении курсов лекций по общей и прикладной генетике и физиологии растений.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр современных молекулярно-генетических методов, включая количественную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) для анализа экспрессии генов, молекулярное клонирование для получения векторов и нокаута целевого гена, ПЦР и секвенирование нового поколения для анализа генотипа полученных линий и гибридов, а также методы выделения и трансформации протопластов картофеля и агробактериальной трансформации растений. Для оценки накопления сахаров использованы биохимические методы, для обработки и анализа данных – методы статистического анализа.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность и воспроизводимость, которая подтверждается применением современных молекулярно-генетических методов, включая методы редактирования генома картофеля с помощью РНК-направленной нуклеазы Cas9, а также анализом данных с использованием адекватно подобранных методов оценки уровня экспрессии генов и эффективности мутагенеза гена вакуолярной инвертазы на протопластах картофеля, с достаточным для получения репрезентативных результатов количеством биологических реплик. Анализ влияния нокаута гена *Pain-1* на устойчивость к холодовому осахариванию проведен с использованием независимо полученных трансформированных линий и различных методов оценки

результатов холодового осахаривания, включая анализ накопления сахаров и анализ пригодности клубней к переработке после хранения на холоде. Полученные данные статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в планировании и проведении большинства научных экспериментов, включая анализ экспрессии генов, создание системы для нокаута гена вакуолярной инвертазы и тестирование ее активности на протопластах картофеля; получение стабильных трансформантов, анализ их генотипа, оценка пригодности клубней к переработке, анализ генотипа гибридов. Автор принимала непосредственное участие в планировании, обработке и интерпретации полученных данных, и подготовке публикаций. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно.

Ряд этапов работы выполнен совместно с сотрудниками ФИЦ ИЦиГ СО РАН, в том числе, анализ содержания сахаров с участием И.А. Сабоиева и к.б.н. Н.Е. Костиной, выращивание растений с участием К.А. Колошиной, анализ последовательностей гена *Pain-1* совместно с Д.И. Каретниковым. Гибридизация растений проводилась Ю.А. Гуреевой и А.С. Батовым. Секвенирование на платформе Illumina Miseq выполнено в ЦКП геномных исследований ФИЦ ИЦиГ СО РАН.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Егорова А.А. аргументированно ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 9. «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Взаимодействие генов», п. 14. «Генетические основы биотехнологии. Генетическая и клеточная инженерия. Генетически модифицированные организмы. Трансгенные организмы. Химерные организмы», п. 22. «Генетические основы селекции. Генетика количественных признаков. Гибридизация. Гетерозис. Инбридинг»

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в текущей редакции).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них докторов наук по специальности 1.5.7. – 8, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Совета,
КИХ НАУК
Совета.

Agree

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

[Signature]

12.11.2025