

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной биотехнологии»
(ФГБНУ ВНИИСБ)

127550, г. Москва
ул. Тимирязевская, д. 42

тел. 8-499-976-65-44
e-mail. iab@iab.ac.ru

06.08.2024 № 16-1/166

УТВЕРЖДАЮ:



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Полховской Екатерины Сергеевны «Структурно-транскриптомный анализ генов пшеницы и тритикале, экспрессирующихся в процессе развития зерновки, с помощью нанопорового секвенирования» выполнена в лаборатории маркерной и геномной селекции растений ФГБНУ ВНИИСБ.

В период подготовки диссертации с 2019 г. по 2023 г, соискатель Полховская Екатерина Сергеевна обучалась в очной аспирантуре в ФГБНУ ВНИИСБ по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки. Диплом об окончании аспирантуры выдан 05 июня 2023 г. ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии. Выдана справка о сдаче кандидатского экзамена по дисциплине «Генетика».

С апреля 2021 г. по настоящее время соискатель работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории маркерной и геномной селекции.

Научный руководитель – Соловьев Александр Александрович, доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, главный научный сотрудник группы репродуктивной биологии растений ФГБНУ ВНИИСБ, заместитель директора Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийского центра карантина растений» (ФГБУ ВНИИКР).

Кандидатские экзамены сданы 06.12.2019 г. (История и философия науки), 25.06.2020 г. (Иностранный язык (английский)), 15.06.2022 г. (Специальная дисциплина по специальности 1.5.6. Биотехнология), 09.10.2023 г. (Специальная дисциплина по специальности 1.5.7. Генетика).

По итогам обсуждения было принято следующее **заключение**:

диссертация Полховской Екатерины Сергеевны представляет законченный научный труд, написанный на актуальную, в настоящее время, тему и посвященный изучению высокомолекулярных генов глютеинов пшеницы и тритикале, а также транскриптомной оценке генов развивающейся зерновки тритикале. По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости работа отвечает требованиям, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям.

Научная новизна. Предметом исследования выбраны гены высокомолекулярных глютеинов и ранее неаннотированные гены, экспрессирующиеся в развивающейся зерновке. В работе оптимизированы два метода целевого секвенирования, которые ранее не применялись на больших и сложных геномах зерновых. Оба метода позволили выявлять вариации, как в кодирующей части генов глютеинов, так и в промоторных областях. С помощью секвенирования nCATS впервые для генов глютеинов было проведено эпигенетическое профилирование у тритикале. Метод секвенирования, основанный на ПЦР-амплификации (ONT Amplicon-seq), позволил всего за 1 час получить необходимое количество данных для оценки аллельных вариантов генов глютеинов среди 23 сортов мягкой пшеницы.

В работе отдельно выделена новая, но постоянно совершенствуемая культура - тритикале, требующая для своего улучшения генерации новых знаний в области молекулярной генетики. Работа посвящена важной и актуальной проблеме оценки полиморфизма генов глютеинов яровой тритикале, изучения изменения статуса метилирования промоторной кодирующей последовательностей генов запасных белков и его связи с экспрессией, идентификации ранее неаннотированных генов, экспрессирующихся в процессе развития зерновки. Полученные результаты обладают несомненной научной новизной и важны для понимания фундаментальных основ экспрессии генома в полиплоидных видах, влияния метилирования и роли днРНК в экспрессии генов. Идентифицированы вариации SNP и InDels полноразмерных генов глютеина, разработан маркер для идентификации инсерции в гене Glu-1Вх тритикале, расшифрованы вариации индивидуальных аллелей Glu-1Ву. Были выявлены 39 914 экспрессирующихся генов, включая 7128 (17,6%) генов, которые ранее не были аннотированы в геномах А, В и R. Среди ранее неаннотированных генов, почти 3174 представлена днРНК, в то время как среди аннотированных их доля не превышает 5%. Это подчеркивает эффективность нанопорового секвенирования для поиска любых экспрессирующихся генов, как белок кодирующих, так и не кодирующих белок генов.

Практическая значимость. Полученные результаты дают новые знания об аллельном полиморфизме известных генов запасных белков и о способности новых генов кодировать белок, привлечение и мониторинг которых в селекционном процессе позволит сбалансировать белковый состав зерновки тритикале и пшеницы и улучшить её технологические и хлебопекарные качества. Исследование предоставляет ценную информацию для улучшения аннотации генома, выяснения функциональных характеристик развивающегося транскриптома зерновки и поиска новых целей для анализа GWAS. Полученные данные о пространственно-временном профиле экспрессии генов во время развития зерновок могут быть полезны для генетического улучшения тритикале.

Степень достоверности. Достоверность результатов проведенного соискателем исследования обусловлена выполнением данной диссертационной работы на современном оборудовании с использованием современных общепринятых и адаптированных для данной работы методик, а также воспроизводимостью всех полученных в процессе исследования результатов.

Ценность научных работ соискателя. Диссертационная работа Полховской Екатерины Сергеевны содержит большой экспериментальный материал, который представляет значительную теоретическую и практическую ценность. По теме научно-квалификационной работы опубликовано 3 научные статьи в журналах первого квартиля и получен патент на изобретение, 11 работ в сборниках российских и международных научных конференций.

Научные статьи, опубликованные в зарубежных изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus/WoS:

1. **Polkhovskaya E.** et al. Nanopore Amplicon Sequencing Allows Rapid Identification of Glutenin Allelic Variants in a Wheat Collection //Agronomy.–2023.–Т. 14. – №. 1. – С. 13. Q1
2. **Polkhovskaya E.** et al. Long-Read cDNA Sequencing Revealed Novel Expressed Genes and Dynamic Transcriptome Landscape of Triticale (x Triticosecale Wittmack) Seed at Different Developing Stages //Agronomy. – 2023. – Т. 13. – №. 2. – С. 292. Q1
3. Kirov I., **Polkhovskaya E.** et al. Searching for a needle in a haystack: Cas9-targeted Nanopore sequencing and DNA methylation profiling of full-length glutenin genes in a big cereal genome //Plants. – 2021. – Т. 11. – №. 1. – С. 5. Q1

Авторское свидетельство:

1. Патент №2785924 С1 от 15.12.2022 г. Способы одновременного нанопорового секвенирования полных последовательностей значимых генов твердой пшеницы // Патентообладатель ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии" / Авторы: Киров И.В., Меркулов П.Ю., Полховская Е.С., Власова А.В., Дудников М.В., Соловьев А.А., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.

Все научные положения и выводы, сформулированные в работе, обоснованы и подтверждены фактическим материалом, полученным в результате собственных исследований соискателя. Опубликованные материалы отражают основное содержание работы.

Таким образом, требования по полноте опубликования основных научных результатов соблюдены. Результаты исследований соискателя, представленные в опубликованных материалах, отражены в диссертации согласно п. 14 Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842). В диссертации соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

Личный вклад автора. Представленные в диссертационной работе экспериментальные данные получены лично автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование и проведение экспериментов, обработку, оформление и публикацию результатов.

Диссертационное исследование Полховской Екатерины Сергеевны соответствует паспорту научной специальности 1.5.7. - Генетика. Учитывая актуальность темы диссертационной работы соискателя «Структурно-транскриптомный анализ генов пшеницы и тритикале, экспрессирующихся в процессе развития зерновки, с помощью нанопорового секвенирования», её научную значимость, новизну полученных результатов, высокий теоретический и экспериментальный уровень работы, аргументированность выводов, диссертационное исследование является научно-квалификационной работой, в которой даны решения поставленных задач.

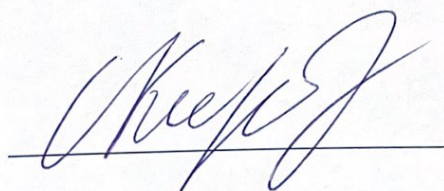
Результаты исследования достоверны. Выводы адекватны используемым методам и соответствуют поставленным задачам. Научные положения и выводы базируются на результатах собственных исследований автора.

Диссертационное исследование Полховской Е.С. удовлетворяет всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней,

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. - «Генетика» и соответствует заявленной специальности, о чем свидетельствуют пункты «Паспорта специальности»: 2. Геномы, их структура и функция; 7. Структурная и функциональная геномика. Эволюционная геномика; 8. Эпигенетика: эпигеном/эпипротеом/эпитранскриптом; 10. Молекулярно-генетические механизмы основных биологических процессов; 16. Генетическая/молекулярно-генетическая биоинформатика и методы многомерного анализа; 17. Частная генетика микроорганизмов, растений и животных; 25. Прикладные аспекты генетики.

Диссертация рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.7. - «Генетика».

Заключение принято на расширенном заседании лаборатории маркерной и геномной селекции растений ФГБНУ ВНИИСБ. Присутствовало на заседании 20 человек. Результаты голосования: «за» – 20 чел., «против» – нет, воздержавшихся – нет. Протокол №3 от «07» июня 2024 г.



Киров Илья Владимирович,
кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник,
заведующий лаборатории
маркерной и геномной
селекции растений

*Подписано: Илья Владимирович Киров
Начальник отдела кадров*

