

## **Заключение диссертационного совета**

**99.0.064.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, по диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук**

**аттестационное дело № \_\_\_\_\_**

**решение диссертационного совета от 24 сентября 2024 г., №3**

О присуждении Шкрылю Юрию Николаевичу, российское гражданство, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Агробактериальные гены *rol* как активаторы биосинтеза вторичных метаболитов и стрессоустойчивости клеток растений» по специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки) принята к защите 15 мая 2024 г., протокол №2 диссертационным советом 99.0.064.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-тия Владивостока, 159, №1108/нк от 16.11.2017 г.

Соискатель Шкрыль Юрий Николаевич, 31 октября 1980 года рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Влияние генов *rol* агробактерий на процессы роста и вторичного метаболизма в культурах трансгенных клеток *Rubia cordifolia*» защитил в 2006 году в диссертационном совете, созданном на базе Биолого-почвенного института ДВО РАН. Работает ведущим научным сотрудником в лаборатории бионанотехнологий и биомедицины ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН с 2019 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории бионанотехнологий и биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН.

Научный консультант – доктор биологических наук, член-корр. РАН Булгаков Виктор Павлович, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, главный научный сотрудник лаборатории биоинженерии.

Официальные оппоненты:

Кулуев Булат Разяпович, доктор биологических наук, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории геномики растений;

Жукова Наталья Владимировна, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, главный научный сотрудник лаборатории сравнительной биохимии;

Калинин Владимир Иванович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории химии морских природных соединений дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург в своем положительном отзыве, подписанном д.б.н., доц., профессором кафедры генетики и биотехнологии Матвеевой Татьяной Валерьевной, указала, что «диссертационная работа является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи – изучение роли rol-генов для создания стабильных клеточных культур с повышенным содержанием

вторичных метаболитов, а также и усиления стрессоустойчивости растений. По актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости результатов, достоверности и обоснованности научных результатов, диссертационная работа Шкрыля Ю.Н. полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки). Результаты работы будут использованы во многих научных и образовательных организациях в нашей стране и за её пределами».

Соискатель имеет 128 опубликованных работ, из них 31 по теме диссертации, в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК опубликовано 17 статей, общим объемом 181 стр., 3 статьи в других периодических изданиях, общим объемом 39 стр., 11 работ опубликованы в материалах всероссийских, международных конференциях, симпозиумах, общим объемом 30 стр.

Наиболее значительные работы:

1. Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. Individual and combined effects of the rolA, B and C genes on anthraquinone production in *Rubia cordifolia* transformed calli // *Biotechnology and Bioengineering*. 2008. V. 100. P. 118–125.

2. Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Gorpenchenko T.Y., Aminin D.L., Zhuravlev Y.N. Decreased ROS level and activation of antioxidant gene expression in *Agrobacterium rhizogenes* pRiA4-transformed calli of *Rubia cordifolia* // *Planta*. 2010. V. 232. № 5. P. 1023–1032.

3. Bulgakov V.P., Gorpenchenko T.Y., Veremeichik G.N., Shkryl Y.N., Tchernoded G.K., Bulgakov D.V., Aminin D.L., Zhuravlev Y.N. The rolB gene suppresses reactive oxygen species in transformed plant cells through sustained activation of antioxidant defense // *Plant Physiology*. 2012. V. 158. № 3. P. 1371–1381.

4. Shkryl Y.N., Tchernoded G.K., Yugay Y.A., Grigorchuk V.P., Sorokina M.R., Gorpenchenko T.Y., Kudinova O.D., Degtyarenko A.I., Onishchenko M.S., Shved N.A., Kumeiko V.V., Bulgakov V.P. Enhanced production of nitrogenated metabolites with anticancer potential in *Aristolochia manshuriensis* hairy root cultures. International Journal of Molecular Sciences. 2023. V. 24. Article ID 11240.

На автореферат поступило 5 положительных отзывов из следующих организаций: Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН (д.б.н., проф., зав. лаб. биоинженерии растений Дейнеко Е.В.); Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (д.б.н., проф., гл.н.с. лаборатории генетики Брыков В.А.); Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (д.б.н., проф., зав. лаб. биохимии Кушнерова Н.Ф.); Федерального научного центра агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (д.б.н., акад. РАН, зав. отделом селекции и биотехнологии сельскохозяйственных культур Клыков А.Г.); Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН (д.х.н., гл.г.с. лаб. молекулярных основ антибактериального иммунитета Новикова О.Д.).

Все отзывы без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования, имеющие научные школы, способные определить научную и практическую ценность диссертации, давшие своё согласие (пп. 22,24 Положения... от 24.09.2013 г., №842).

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработана** методология использования агробактериальных генов *rol* для активации биосинтеза вторичных метаболитов в растительных клетках, что значительно расширяет возможности генетической инженерии растений;

**предложены** новые подходы к регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза в растительных клетках с помощью дифференцированного действия генов *rolB* и *rolC* на продукцию активных форм кислорода (АФК);

**доказана** способность генов *rol* ингибировать продукцию внутриклеточных АФК и активировать антиоксидантные системы, что приводит к повышению устойчивости трансформированных клеток к абиотическим стрессам;

**получены** новые данные о влиянии гена *rolB* на биогенез микроРНК, а также на экспрессию белков, связанных с гормональной регуляцией и защитными реакциями растений.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**описаны** молекулярные механизмы воздействия агробактериальных генов *rol* на биосинтез вторичных метаболитов и регуляцию окислительно-восстановительного гомеостаза в растительных клетках;

**выявлены** новые подходы к изучению генетической регуляции метаболических процессов с помощью генов *rol*, что расширяет представления о фундаментальных закономерностях регуляции роста и развития растений;

**раскрыты** особенности взаимодействия генов *rol* с антиоксидантными системами и сигнальными путями, связанными с продукцией АФК и устойчивостью к стрессам;

**изучены** механизмы действия отдельных генов *rol* в контексте плейотропного воздействия на физиологические процессы, включая биогенез микроРНК и экспрессию белков теплового шока и циклофилинов;

**применительно к проблематике диссертации** эффективно использованы методы молекулярной биологии, генетической инженерии и биохимического анализа, что позволило глубоко изучить влияние трансформации растительных клеток генами *rol*.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**определены** эффективные подходы к использованию агробактериальных генов *rol* для повышения устойчивости растений к абиотическим стрессам и усиленной продукции вторичных метаболитов;

**создана** методологическая база для применения генетически трансформированных клеток растений в биотехнологии, включая производство лекарственных средств на основе растительных метаболитов;

**представлены** способы генетической модификации вторичного метаболизма растений, что позволяет оптимизировать процессы получения ценных биоактивных соединений в условиях клеточных культур.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**для экспериментальных работ** был использован широкий спектр методов исследования с привлечением современной приборной базы. Все эксперименты логично спланированы, а результаты имеют высокую степень воспроизводимости;

**теоретические выкладки**, представленные диссертантом, согласуются с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

**идея** основывается на оценке мировой практики изучения агробактериальных генов *rol* как регуляторов метаболических процессов и стрессоустойчивости растений;

**использованы** валидированные методы молекулярной биологии, генетической инженерии и биохимического анализа, включая ПЦР в реальном времени, секвенирование ДНК, хроматографию и масс-спектрометрию, что подтверждает достоверность полученных данных.

**Личный вклад соискателя состоит** в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Основные результаты были получены лично автором и под его непосредственным руководством. Автор осуществлял планирование и проведение экспериментов, выбор методов, анализ результатов и подготовку публикаций. Химический анализ культур марены сердцелистной выполнен совместно с сотрудниками лаборатории химии природных хиноидных соединений Тихоокеанского института биоорганической химии

ДВО РАН к.х.н. Мищенко Н.П. и д.х.н. Федореевым С.А. Фармакологическая активность антрахинонов определена совместно с коллегами из Алтайского государственного медицинского университета (г. Барнаул). Состав и содержание вторичных метаболитов резуховидки Таля установлено совместно с н.с. Григорчук В.П. (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН). Цитотоксические свойства экстрактов из клеточных культур кирказона определены совместно с коллегами из лаборатории биомедицинских клеточных технологий Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета (г. Владивосток). Анализ содержания АФК с помощью конфокальной микроскопии проведён совместно с руководителем лаборатории клеточной биологии и биологии развития ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН к.б.н. Горпенченко Т.Ю.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения учёных степеней, п. 9, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. Почему был выбран паракват для индукции окислительного стресса?
2. Является ли наличие вторичных метаболитов в растительной клетке нормой?
3. Является ли показанная антиоксидантная активность в модельных клетках результатом действия накапливаемых вторичных метаболитов, или следствием активации регуляторных механизмов, защищающих клетку от окислительного стресса.

Соискатель Шкрыль Ю.Н. ответил на все вопросы, привел собственную аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласился с критическими замечаниями. На заседании 24 сентября 2024 г. диссертационный совет принял решение за разработку теоретических положений, совокупность

которых можно квалифицировать, как научное достижение присудить Шкрылю Ю.Н. ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности биотехнология, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 15, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель  
диссертационного совета,  
академик РАН



Журавлев Юрий Николаевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета,

к.б.н.

25.09.2024 г.

Тюнин Алексей Петрович