

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
СУПРУНА АНДРЕЯ РОМАНОВИЧА
«РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* L. С ПОМОЩЬЮ
ЭКЗОГЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ *IN VITRO* СИНТЕЗИРОВАННЫХ РНК»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальностям 1.5.6 – Биотехнология (биологические науки),
1.5.4 – Биохимия (биологические науки)

Работа А.Р. Супруна посвящена проблеме индукции РНК-интерференции в клетках растений с помощью экзогенных синтезированных РНК. Регуляция экспрессии генов растений без изменения их генома является одним из важнейших направлений современной биотехнологии растений. Возможность повышения устойчивости растений без генетических модификаций и химической обработки открывает новые перспективы в создании безопасной и экологически чистой растительной продукции. В ряде исследований было показано, что искусственно-синтезированные некодирующие РНК, нанесенные на поверхность растения различными способами, могут ингибировать экспрессию генов как у патогенов растений, так и у самого растения. Однако, многие вопросы, касающиеся механизмов проникновения нуклеиновых кислот в растения и действия на экспрессию растительных генов, остаются неясными.

В рецензируемой работе было впервые подробно изучено влияние экзогенных РНК на экспрессию трансгенов и эндогенных генов в растении *Arabidopsis thaliana*. Важный акцент в работе сделан на исследовании влияния факторов окружающей среды и условий обработки растений на эффективность действия растворов РНК. Впервые показано, что эффективность ингибирования экспрессии целевых генов экзогенными РНК зависит от времени суток, степени увлажненности почвы и возраста растений в момент обработки. Результаты настоящего исследования подчеркивают значительный потенциал использования экзогенных РНК как в научной практике – для изучения функций генов, так и для регуляции ценных для сельского хозяйства свойств растений.

Диссертация изложена на 117 страницах и построена по традиционной схеме, состоит из введения, обзора литературы, методической части, результатов работы, их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 201 источник. Работа иллюстрирована 30 рисунками и содержит 5 таблиц, что упрощает понимание материала.

Во введении достаточно полно раскрыты проблематика, актуальность и новизна исследования, обозначены цели и задачи работы. Выносимые на защиту научные положения хорошо обоснованы, их формулировки не вызывают вопросов. Обзор литературы соответствует задачам работы и широко охватывает проблему РНК-интерференции в растениях, включая методологические аспекты применения некодирующих РНК для подавления экспрессии генов растения или его патогенов. В работе использован широкий диапазон методов, включающий выращивание растений, получение трансгенных растений, биохимический анализ, микроскопический анализ,

молекулярно-генетические методы, биоинформатический анализ и статистические методы обработки данных. Достоверность полученных результатов обеспечивается корректностью использования всех методов, многократной повторностью экспериментов и их статистической обработкой. Результаты представлены в виде главы собственных исследований на 40 страницах, их изложение является полной иллюстрацией ответов на вопросы, сформулированные автором при постановке задач. Обсуждение полученных результатов представлено достаточно подробно. При проведении сравнительного анализа полученных и описанных в литературных источниках данных соискатель апеллирует к новейшим исследованиям по теме диссертации. Выводы, сделанные автором, обоснованы и отражают основные результаты экспериментального исследования.

В целом работа А.Р. Супруна не встречает каких-либо серьезных возражений. К работе есть несколько вопросов:

1. Насколько технологический подход, основанный на внешней обработке растений растворами РНК, применим на практике (в масштабах поля)?
2. Каким образом экзогенная синтезированная РНК попадает в клетки растения?
3. Сколько растений было в выборке экспериментов по оптимизации условий и способа обработки растений (раздел 3.4 главы «Результаты»)?
4. Почему при анализе уровня цитозинового метилирования использовали белок-кодирующую последовательность трангена, и не анализировали метилирование в области двойного 35S промотора?
5. Почему в контрольных трансгенных растениях наблюдался высокий уровень цитозинового метилирования трансгенов (>50%), что не коррелирует с высокой экспрессией этих генов (Рис. 23, 24)?
6. Почему анализ цитозинового метилирования белок-кодирующей последовательности трансгенов был представлен в трех контекстах в отдельности, а не вместе? (Поскольку далее эти данные не обсуждаются.)

При прочтении диссертации возникло несколько небольших замечаний:

1. На мой взгляд, Рисунок 1, отражающий разнообразие некодирующих РНК, полностью дублирует текст соответствующей главы обзора литературы и вызывает вопросы по своей структуре. Возможно, от него стоило бы отказаться.
2. Раздел 1.3. обзора литературы, посвященный роли дцРНК и киРНК в регуляции устойчивости растений, написан несколько небрежно и изобилует рядом неудачных стилистических оборотов и формулировок (например: «клетки-хозяева растений», «важные грибковые гены», «против важных гены целевого грибкового патогена», «биологическая активность колорадского жука» и т.д.).
3. В диссертационной работе имеется некоторое количество синтаксических и пунктуационных ошибок.
4. В некоторых местах гены не обозначены курсивом.

Перечисленные вопросы и замечания носят скорее редакционный характер, и не умаляют безусловных достоинств работы.

По материалам диссертации опубликовано 6 статей в журналах из базы данных Web of Science и Scopus с высоким импакт фактором, что свидетельствует о высоком методическом уровне проделанной работы. Результаты неоднократно были представлены на научных конференциях, в том числе и международной. Автореферат и публикации в полной мере представляют содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа А.Р. Супруна на тему «Регуляция экспрессии генов *Arabidopsis thaliana* L. с помощью экзогенного применения *in vitro* синтезированных РНК» является законченной научно-исследовательской работой. Работа содержит новое решение важных и актуальных проблем современной биотехнологии, а полученные результаты и сделанные выводы полностью отвечают поставленным задачам.

По актуальности темы, методическому уровню, степени обоснованности научных положений и выводов, достоверности и новизне результатов, их значимости для науки и практики, диссертационная работа соответствует квалификационным критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.6 – биотехнология (биологические науки) и 1.5.4 – биохимия (биологические науки).

28.11.2022

Кандидат биологических наук по специальности
03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии),
научный сотрудник Лаборатории фармакологии
ННЦМБ ДВО РАН

Мельникова Дарья Игоревна

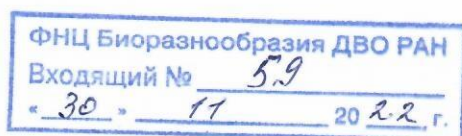
Адрес организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского»
Дальневосточного отделения Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН)
690041, г. Владивосток, Пальчевского, д. 17.
Тел. (423) 231-09-05
E-mail: dashkamelnikova93@gmail.com

Подпись Д.И. Мельниковой заверяю:

Ученый секретарь ННЦМБ ДВО РАН

Жуков В.Е.



Сведения об оппоненте

по диссертационной работе Супруна Андрея Романовича
на тему «Регуляция экспрессии генов *Arabidopsis thaliana* L. с помощью экзогенного
применения *in vitro* синтезированных РНК», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.6. Биотехнология и 1.5.4 –
Биохимия (биологические науки)

Фамилия Имя Отчество оппонента	Мельникова Дарья Игоревна
Шифр и наименование специальностей, по которым защита диссертация	03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)
Ученая степень и отрасль науки	кандидат биологических наук
Ученое звание	отсутствует
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук (НИЦМБ ДВО РАН)
Занимаемая должность	Научный сотрудник лаборатории Фармакологии
Почтовый индекс, адрес	690041, Владивосток, Пальчевского, 17
Телефон	+7 (950) 285-34-58
Адрес электронной почты	dashkamelnikova93@gmail.com
Список основных публикаций официального оппонента по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	<p>1. Melnikova D.I., Khotimchenko Y.S., Magarlamov T.Yu. Addressing the issue of tetrodotoxin targeting // <i>Marine Drugs</i>. – 2018. – V. 16. – № 10. – P. 352 – 366.</p> <p>2. Melnikova D.I., Vlasenko A.E., Magarlamov T.Yu. Stable tetrodotoxin production by <i>Bacillus</i> sp. strain 1839 // <i>Marine Drugs</i>. – 2019. – V. 17. – № 12. – P. 704 – 710.</p> <p>3. Melnikova D.I., Magarlamov T.Yu. The microbial community of tetrodotoxin-bearing and non-tetrodotoxin-bearing ribbon worms (Nemertea) from the Sea of Japan // <i>Marine Drugs</i>. – 2020. – V. 18. – № 3. – P. 177 – 194.</p> <p>4. Melnikova D.I., Reindert N., Magarlamov T.Yu. The first data on the complete genome of a tetrodotoxin-producing bacterium // <i>Toxins</i>. – 2021. – V. 13. – № 6. – P. 1 – 9.</p> <p>5. Melnikova D.I., Magarlamov T.Yu. An overview of the anatomical distribution of tetrodotoxin in animals // <i>Toxins</i>. – 2022. – V. 14. – № 8. – P. 1 – 34.</p>