

ОТЗЫВ

официального рецензента на диссертационную работу Александровой Алёны Михайловны на тему «Идентификация белков S-вируса картофеля, супрессирующих РНК-интерференцию, для получения растений, устойчивых к карлавирусам», предоставленную на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «6D070100-Биотехнология».

№п/п	Критерии	Соответствие критериям (необходимо отметить один из вариантов ответа)	Обоснование позиции официального рецензента
1.	Тема диссертации (на дату ее утверждения) соответствует направлениям развития науки и/или государственным программам	1.1 Соответствие приоритетным направлениям развития науки или государственным программам: 1) Диссертация выполнена в рамках проекта или целевой программы, финансируемого(ой) из государственного бюджета (указать название и номер проекта или программы) 2) Диссертация выполнена в рамках другой государственной программы (указать название программы) 3) Диссертация соответствует приоритетному направлению развития науки, утвержденному Высшей научно-технической комиссией при Правительстве Республики Казахстан (указать направление)	1. Грантовое финансирование по научным и (или) научно-техническим проектам №АР05131133 на 2018-2020 годы «Выявление белков S вируса картофеля, подавляющих процесс РНК-интерференции клеток хозяина, с целью исследования молекулярных механизмов взаимодействия вируса и растения и оздоровления вирусного материала» 3. Диссертация соответствует приоритетному направлению развития науки- биотехнология , утвержденному Высшей научно-технической комиссией при Правительстве Республики Казахстан
2.	Важность для науки	Работа вносит /не вносит существенный вклад в науку, а ее важность хорошо раскрыта /не раскрыта	Полученные в ходе выполнения работы результаты могут быть использованы для разработки биотехнологии получения новых сортов и гибридов картофеля с генетически закрепленной устойчивостью к определенным вирусным инфекциям, а также как один из инструментов оздоровления картофеля.
3.	Принцип самостоятельности и	Уровень самостоятельности: 1) Высокий ; 2) Средний; 3) Низкий; 4) Самостоятельности нет	На основе полученных результатов опубликовано 27 работ, что свидетельствует о высокой самостоятельности выполненных работ.
4.	Принцип внутреннего	4.1 Обоснование актуальности диссертации: 1) Обоснована ;	РНК-интерференция представляет собой природный клеточный механизм регуляции

единства	<p>2) Частично обоснована; 3) Не обоснована.</p>	<p>транскриптома клетки, одной из функций которого является борьба с вирусными инфекциями. Функциями этого процесса является не только регуляция транскрипции, экспрессии и посттранскрипционного замалчивания генов, но также и защита от эндогенных и чужеродных молекул РНК, представителями которых являются вирусы. Большинство растительных вирусов содержат в качестве носителя генетической информации молекулу РНК, взаимодействие которой с клеткой хозяина так же осуществляется на уровне её транскрипции и трансляции. Вирусы, в свою очередь, противодействуют клеточному процессу РНК-интерференции, подавляя её белками супрессорами. Изучение взаимодействия вирусов между собой и клетками хозяина позволяет разработать эффективные способы борьбы с вирусными инфекциями и повысить урожайность сельскохозяйственных культур (картофеля) в несколько раз.</p>
	<p>4.2 Содержание диссертации отражает тему диссертации: 1) Отражает; 2) Частично отражает; 3) Не отражает</p>	<p>Диссертация отражает тему исследования. Приводятся не только результаты идентификации супрессионной активности белков S-вируса картофеля, но и представлены результаты получения устойчивых к карлавирусам растений картофеля, что полностью соответствует теме работы.</p>
	<p>4.3. Цель и задачи соответствуют теме диссертации: 1) соответствуют; 2) частично соответствуют; 3) не соответствуют</p>	<p>Результаты исследований, предложенные в диссертационной работе, включали несколько задач. Поставленная цель и задачи исследований полностью решены, научно обоснованы выводы, заключение и даны предложения производству. Результаты работы соответствуют поставленным целям и</p>

			задачам.
		4.4 Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны: 1) полностью взаимосвязаны; 2) взаимосвязь частичная; 3) взаимосвязь отсутствует	Все разделы и положения диссертации полностью взаимосвязаны и логически выстроены.
		4.5 Предложенные автором новые решения (принципы, методы) аргументированы и оценены по сравнению с известными решениями: 1) критический анализ есть; 2) анализ частичный; 3) анализ представляет собой не собственные мнения, а цитаты других авторов	Предложенные автором новые решения по оздоровлению картофеля аргументированы и оценены по сравнению с известными решениями.
5.	Принцип научной новизны	5.1 Научные результаты и положения являются новыми? 1) полностью новые; 2) частично новые (новыми являются 25-75%); 3) не новые (новыми являются менее 25%)	Впервые была проведена работа по идентификации супрессорной активности у белков PVS, которая оказалась на низком уровне. В результате исследований был разработан новый метод оздоровления картофеля на основе стимуляции естественного механизма РНК-интерференции и получены убедительные доказательства эффективности данного подхода к оздоровлению и получению генетически-устойчивых к вирусам растений картофеля.
		5.2 Выводы диссертации являются новыми? 1) полностью новые; 2) частично новые (новыми являются 25-75%); 3) не новые (новыми являются менее 25%)	Выводы диссертации являются новыми, поскольку была обнаружена слабая супрессорная активность у белка оболочки, 25К и 11К у одного из штаммов PVS. Использованные для трансформации интрон-шпилечные рекомбинантные ДНК действительно вызывали запуск РНК-интерференции, что подтверждено результатами секвенирования миРНК препаратов тотальных РНК трансгенных растений.
		5.3 Технические, технологические, экономические или управленческие решения являются новыми и обоснованными: 1) полностью новые;	В настоящее время внедрение новых подходов к повышению продуктивности агрокультур посредством развития устойчивости к

		<p>2) частично новые (новыми являются 25-75%);</p> <p>3) не новые (новыми являются менее 25%)</p>	<p>различным инфекциям является перспективным направлением. Предложенный в работе метод получения вирусоустойчивых растений может найти широкое применение в сельском хозяйстве, поскольку, в результате генетической трансформации отсутствует продукт экспрессии трансгена в виде протеина, что позволяет предположить отсутствие негативных последствий использования таких генетически-модифицированных организмов в качестве продукта питания человека и корма для сельскохозяйственных животных.</p>
6.	Обоснованность основных выводов	<p>Все основные выводы основаны/не основаны на весомых с научной точки зрения доказательствах либо достаточно хорошо обоснованы (для qualitative research и направлений подготовки по искусству и гуманитарным наукам)</p>	<p>Посредством секвенирования микро(ми)РНК и последующей реконструкции вирусных последовательностей в трех трансгенных линиях картофеля было доказано, что именно трансген-опосредованные короткие интерферирующие (ки)РНК вызывают резистентность к вирусному заражению. На основе использования интрон-шпилечных рекомбинантных ДНК-конструкций был разработан новый метод оздоровления зараженного вирусными инфекциями картофеля. Полученные в ходе выполнения работы результаты могут быть использованы для разработки биотехнологии получения новых сортов и гибридов картофеля с генетически закрепленной устойчивостью к определенным вирусным инфекциям, а также как один из инструментов оздоровления картофеля.</p>
7.	Основные положения, выносимые на защиту	<p>Необходимо ответить на следующие вопросы по каждому положению в отдельности:</p> <p>7.1 Доказано ли положение?</p> <p>1) доказано;</p>	<p>1. Наиболее распространенными вирусными инфекциями в Казахстане являются PVS (более 35%) и PVM (более 80%) – представители рода Carlavirus. PVS чаще всего</p>

		<p>2) скорее доказано; 3) скорее не доказано; 4) не доказано</p> <p>7.2 Является ли тривиальным? 1) да; 2) нет</p> <p>7.3 Является ли новым? 1) да; 2) нет</p> <p>7.4 Уровень для применения: 1) узкий; 2) средний; 3) широкий</p> <p>7.5 Доказано ли в статье? 1) да; 2) нет</p>	<p>встречается в комплексной инфекции с PVM. На территории Казахстана существует широкое разнообразие изолятов PVS, относящиеся к двум штаммам – Ordinary («Fortune», NCBI GenBank acc. nos. MK442089; «PVS_ALYU-75» ON583978) и Andean (Ushkonyr, MN095414).</p> <p>Положение доказано; не является тривиальным, является новым; уровень применения широкий, доказано в статье.</p> <p>2. Белок оболочки (CP), а также белки 25K и 11K вируса PVSA (Andean) проявляют слабую супрессорную активность на грани детекции в условиях транзientной экспрессии в индикаторных растениях табака <i>Nicotiana benthamiana</i> линии 16с. У белков штамма PVS⁰ (Ordinary), синтезируемых с 2-ой по 6-ю открытые рамки считывания (ОРС) выраженных супрессорных свойств в этой системе зарегистрировать не удалось.</p> <p>Положение доказано; не является тривиальным, является новым; уровень применения широкий, доказано в статье.</p> <p>3. Использование интрон-шпилечных ДНК-конструкций в качестве индуктора РНК-интерференции способствовало развитию множественной устойчивости к родственным вирусам у трансгенного картофеля, а также обеспечивает оздоровляющий эффект на заражённых растениях на уровне малых РНК.</p> <p>Положение доказано; не является тривиальным, является новым; уровень применения широкий, доказано в статье.</p>
--	--	--	---

8.	Принцип достоверности Достоверность источников и предоставляемой информации	8.1 Выбор методологии – обоснован или методология достаточно подробно описана: 1) да; 2) нет	Методология выполнения диссертационной работы включает современные подходы к определению супрессорных свойств белков вирусов на основе временной экспрессии в индикаторных растениях табака, а также молекулярный анализ РНК трансгенных растений.
		8.2 Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий: 1) да; 2) нет	Результаты работы были получены с использованием современных молекулярно-биологических методов: выделения РНК и ДНК из растительной ткани, реакции обратной транскрипции (РОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноферментного анализа (ИФА), northern-блоттинга, секвенирования по Сэнгеру и Illumina®, электрофореза в агарозе и полиакриламидном геле, клонирования и экспрессии генов, а также современных методов биоинформатического анализа с использованием MEGA-X (v. 10.0.2), NCBI BLAST и GenBank и т.д.
		8.3 Теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальным исследованием (для направлений подготовки по педагогическим наукам результаты доказаны на основе педагогического эксперимента): 1) да; 2) нет	Теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальным исследованием 1) да;
		8.4 Важные утверждения подтверждены /частично подтверждены/не подтверждены ссылками на актуальную и достоверную научную литературу	Важные утверждения подтверждены ссылками на актуальную и достоверную научную литературу.
		8.5 Использованные источники литературы достаточны /не достаточны для литературного обзора	Представленный в диссертационной работе обзор литературы, включающий ссылки на 286 источников, из которых около половины за последние 10 лет, полностью раскрывают предмет исследований и мировые тенденции решения аналогичных проблем.

9	Принцип практической ценности	9.1 Диссертация имеет теоретическое значение: 1) да; 2) нет	Проведена оценка разнообразия изолятов вируса PVS на территории Республики Казахстан и изучении взаимодействия слабо изученного вируса PVS с клеткой хозяином. В результате работы в базу данных NCBI GenBank было депонировано 3 полногеномные последовательности казахстанских изолятов PVS (MK442089, ON583978, MN095414) и 2 полногеномные последовательности вируса PVY (ON583979, ON583980).
		9.2 Диссертация имеет практическое значение и существует высокая вероятность применения полученных результатов на практике: 1) да; 2) нет	Предложенный в работе метод получения вирусостойчивых растений может найти широкое применение в биотехнологии и сельском хозяйстве, поскольку, в результате генетической трансформации отсутствует продукт экспрессии трансгена в виде протеина, что позволяет предположить отсутствие негативных последствий использования таких генетически-модифицированных организмов в качестве продукта питания человека и корма для сельскохозяйственных животных.
		9.3 Предложения для практики являются новыми? 1) полностью новые; 2) частично новые (новыми являются 25-75%); 3) не новые (новыми являются менее 25%)	Предложен новый метод оздоровления картофеля с использованием современных методов генетической инженерии.
10.	Качество написания и оформления	Качество академического письма: 1) высокое; 2) среднее; 3) ниже среднего; 4) низкое.	Актуальность темы, научная новизна, современная методология, объем проведенных исследований и их анализ с использованием самых современных методов исследования, полная реализация поставленных целей и задач, практические рекомендации полученные в ходе выполнения работы могут быть использованы для разработки биотехнологии получения новых сортов и гибридов картофеля с генетически

закрепленной устойчивостью к определенным вирусным инфекциям, а также как один из инструментов оздоровления картофеля указывают на то, что выполненная работа полностью удовлетворяет требованиям Правил присуждения ученых степеней.

На основании вышеизложенного предлагаю присудить Александровой Алёне Михайловне степень доктора философии (PhD) по специальности «6D070100-Биотехнология».

Официальный рецензент:

к.б.н., зав. лаб. биотехнологии садовых культур
ТОО «Казахский научно-исследовательский институт плодовоовощеводства»



С.Г. Долгих — Долгих С.Г.

5 мая 2023 г.

Данная работа верна. На основании этого в работе а авторам присужден Ф.Ф. 05.05.2023 г.