

ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Гнатюк Ірини Сергіївни за темою «Застосування прийомів генетичної інженерії для отримання біотехнологічних рослин та редагування геному ріпаку озимого *Brassica napus* L.» на здобуття наукового ступеня доктора філософії
галузь знань 09 «Біологія»
спеціальність 091 «Біологія»**

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Симоненко Юрій Вікторович.

Рецензенти:

Матвєєва Надія Анатоліївна – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії адаптаційної біотехнології.

Листван Катерина Володимирівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник.

Під час попередньої експертизи дисертації здобувачки відділу генетичної інженерії Інституту клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України Гнатюк Ірини Сергіївни на тему «Застосування прийомів генетичної інженерії для отримання біотехнологічних рослин та редагування геному ріпаку озимого *Brassica napus* L.», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», рецензенти: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії адаптаційної біотехнології Матвєєва Надія Анатоліївна та кандидат біологічних наук, науковий співробітник Листван Катерина Володимирівна на підставі вивчення матеріалів наукових публікацій та рукопису дисертації, а також результатів проведеної попередньої експертизи дисертації (фахового семінару) дійшли такого висновку:

1. Обґрунтування вибору теми дослідження та зв'язок роботи з науковими темами установи

Актуальність теми дисертаційного дослідження полягає у вирішенні ряду завдань пов'язаних із створенням біотехнологічних рослин комерційних ліній озимого ріпаку *B. napus* L. української селекції. Одним із найефективніших методів підвищення врожайності, стійкості проти абіотичних і біотичних факторів середовища та енергоекономічності сільськогосподарських культур, у тому числі й ріпаку, є генетично-селекційне поліпшення сортів. Крім того, на сьогоднішній день в Україні відсутні роботи по редагуванню геному ріпаку з використанням системи CRISPR/Cas9.

Дисертаційна робота виконувалася в період з 2017 по 2021 роки у відділі генетичної інженерії Інституту клітинної біології і генетичної інженерії НАН України під керівництвом кандидата біологічних наук Ю. В. Симоненка

в рамках бюджетних тем: III-1-15 «Вивчення фізіолого-біохімічних і молекулярно-біологічних особливостей функціонування та успадкування гетерологічних генів в рослинних системах» та III-1-20 «Цілеспрямовані зміни геному та плейотропні ефекти у генетично трансформованих рослинних системах».

2. Наукова новизна результатів дисертаційного дослідження

- *Наукова новизна отриманих результатів* полягає у розробці платформи для редагування геному озимого ріпаку української селекції, а саме *уперше*:

- розроблено ефективну систему регенерації озимого ріпаку *B. napus* L. лінії *Bn1* української селекції, яка дозволяє отримати насіння нульового покоління через рік після початку експериментів та не призводить до утворення соматоклонів в культурі *in vitro*;

- оптимізовано умови *Agrobacterium*-опосередкованої генетичної трансформації озимого ріпаку лінії *Bn1* української селекції та створено трансгенні лінії на основі цього сорту, стійкі до гербіциду фосфінотрицину;

- створено трансгенні рослини озимого ріпаку лінії *Bn1*, стійкі до гербіциду гліфосату, в результаті генетичної трансформації конструкціями pCB133, pCB135 та pSPG2254;

- створено генетичний вектор pSPE2053, що несе ген бактеріальної ендонуклеази Cas9; за використання цього вектора отримано трансгенні лінії озимого ріпаку, які в подальшому будуть використовуватися в селекційних програмах для здійснення редагування геному;

- створено генетичну конструкцію pSPE2058, що несе ген бактеріальної ендонуклеази Cas9, направляючі послідовності Aa1 та Aa2 для редагування геному ріпаку з метою накопичення олеїнової кислоти, а також селективний ген фосфінотрицин-N-ацетилтрансферази *bar*; конструкція буде використана для створення високоолеїнових ліній озимого ріпаку української селекції.

3. Теоретичне та практичне значення отриманих результатів

Біотехнологічні рослини ріпаку озимого лінії української селекції *Bn1*, стійкі до гербіциду гліфосату, можуть бути використані в подальших експериментальних дослідженнях та у селекційних програмах. Крім того, в якості платформи для редагування геному ріпаку, було створено генетичну конструкцію на основі системи CRISPR/Cas9, а також отримано біотехнологічні рослини, що несуть ген синтезу бактеріальної ендонуклеази Cas9.

Результати теоретичних та практичних досліджень:

- застосовуються в практичній діяльності ТОВ "БЕТА НК" при створенні біотехнологічних рослин ріпаку озимого із якісно новими ознаками;

- можуть представляти інтерес для наукових та навчальних закладів, зокрема під час викладання біотехнології та генетики рослин.

4. Особистий внесок здобувача

Аналіз наукової літератури, інформаційний пошук за темою дослідження, планування та проведення експериментальної роботи, обробка отриманих даних, формулювання висновків, написання наукових публікацій та розділів дисертації проведено особисто здобувачем. Формування мети, наукових завдань дослідження, обговорення висновків дисертації проводилось спільно з науковим керівником – кандидатом біологічних наук Юрієм Вікторовичем Симоненком.

5. Повнота опублікування результатів дисертації, кількість наукових публікацій та конкретний особистий внесок здобувача до всіх наукових публікацій, опублікованих зі співавторами та зарахованих за темою дисертації

Результати дисертаційного дослідження викладено в 11 наукових працях: 5 статей (в т.ч. три статті, які індексуються у наукометричних базах даних "Scopus" та "Web of science"), серед яких: одна стаття у періодичному науковому виданні іншої держави, яка входить до країн Європейського Союзу, чотири статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України, 6 тез у матеріалах міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференцій.

Наведений перелік публікацій, їх зміст та обсяг відповідають темі дисертації, у повному обсязі відображають отримані положення, наукові результати та висновки, свідчать про їх новизну.

6. Список публікацій за темою дисертації:

1. Гнатюк І.С., Варченко О.І., Парій М.Ф., Симоненко, Ю.В. Підбір селективних концентрацій гліфосату для ефективного відбору *in vitro* трансгенних тканин озимого ріпаку *Brassica napus* L. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2019. Т. 25. С. 197–201. doi:10.7124/FEEO.v25.1164

Особистий внесок: здійснила літературний пошук, поставила експеримент з підбору селективних концентрацій гліфосату та статистично обробила отримані результати, оформила статтю.

2. Hnatiuk I.S., Varchenko O.I., Kuchuk M.V., Parii M.F., Symonenko Yu.V. Development of an effective *in vitro* regeneration system for Ukrainian breeding winter rape *Brassica napus* L. *Cytology and Genetics*. 2020. Vol. 54, No. 4. P. 341–346. doi:10.3103/S0095452720040039

Особистий внесок: збрала літературні дані, спланувала та поставила експерименти з регенерації та яровизації озимого ріпаку, оформила статтю.

3. Hnatiuk I.S., Varchenko O.I., Bannikova M.O., Kuchuk M.V., Parii M.F., Symonenko Yu.V. Development of an effective technique for *in vitro* *Agrobacterium*-

mediated genetic transformation of winter rape *Brassica napus* L. *AgroLife Scientific Journal*. 2020. Vol. 9, No. 1. P. 149–155.

Особистий внесок: збрала літературні дані, здійснила генетичну трансформацію озимого ріпаку української селекції при заданих умовах, провела аналіз трансгенних рослин-регенерантів, оформила статтю.

4. Гнатюк І.С., Варченко О.І., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Створення генетичного вектору для редагування геному рослин, що несе ген синтезу бактеріального білка Cas9. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020. Т. 26. С. 176–182. doi:10.7124/FEEO.v26.1263

Особистий внесок: методом молекулярного клонування Golden Gate створила вектор для трансформації агробактеріальних клітин pSPE2053, здійснила гістохімічний аналіз експресії β -глюкуронідази, оформила статтю.

5. Hnatyuk I.S., Varchenko O.I., Kuchuk M.V., Parii M.F., Symonenko Yu.V. Creation of winter rapeseed *Brassica napus* L. commercial line of biotechnological plants, resistant to the glyphosate action. *Biopolymers and Cell*. 2020. Vol. 36, No. 6. P. 423–432. doi:10.7124/bc.000A40

Особистий внесок: поставила експерименти з генетичної трансформації озимого ріпаку, здійснила аналіз рослин за допомогою ПЛР та ІФА, статистично обробила результати, оформила статтю.

6. Гнатюк І.С., Варченко О.І., Парій Я.Ф., Кучук М.В., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. *Agrobacterium*-опосередкована генетична трансформація озимого ріпаку *Brassica napus* L. Селекційно-генетична наука і освіта: матеріали VII міжнародної наукової конференції, Парієві читання (м. Умань, 19-21 березня 2018). Умань: Видавець "Сочінський М.М.", 2018. С. 51.

Особистий внесок: спланувала та поставила експеримент, оформила тези.

7. Гнатюк І.С., Варченко О.І., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Ефективна методика регенерації *in vitro* ріпаку озимого *Brassica napus* L. *Сучасні технології підвищення генетичного потенціалу рослин: Збірник тез Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю Національної академії аграрних наук України та 110-річчю заснування Інституту рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН (м. Харків, 4-5 липня 2018)*. Харків, 2018. С. 216–217.

Особистий внесок: поставила експеримент, оформила тези.

8. Шатоха Д.Г., Варченко О.І., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В., Гнатюк І.С. Молекулярно-генетичний аналіз трансгенних рослин озимого ріпаку *Brassica napus* L. лінії вітчизняної селекції. *Біотехнологія XXI століття: матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 135-річчю від дня народження Олександра Володимировича Палладіна (м. Київ, 20 травня 2020)*. Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, вид-во "Політехніка", 2020. С. 95.

Особистий внесок: спланувала експеримент, оформила висновки, редагувала тези.

9. Гнатюк І.С., Варченко О.І., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Створення генетичної конструкції для редагування жирнокислотного складу ріпаку.

Біотехнологія: звершення та надії: збірник тез IX Всеукраїнської науково-практичної онлайн-конференції (м. Київ, 20-21 травня 2021). Київ, 2021. С. 85–86.

Особистий внесок: методом молекулярного клонування Golden Gate створила генетичну конструкцію для редагування жирнокислотного складу ріпаку, здійснила молекулярно-генетичний аналіз, написала тези.

10. Шатоха Д.Г., Варченко О.І, Парій М.Ф., Симоненко Ю.В., Гнатюк І.С. Генетичний аналіз рослин озимого ріпаку *Brassica napus* L., отриманих після редагування геному вектором, що несе ген синтезу ендонуклеази Cas9. *Селекційно-генетична наука і освіта: матеріали X міжнародної наукової конференції, Парієві читання (м. Умань, 19 березня 2021). Умань, 2021. С. 249–252.*

Особистий внесок: спланувала експеримент, оформила висновки, редагувала тези.

11. Гнатюк І.С., Шатоха Д.Г., Дзуг М.С., Варченко О.І., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Молекулярно-генетичний аналіз трансгенних рослин ріпаку озимого *B. napus* L., стійких до гербіциду гліфосату. *Інноваційні досягнення сучасних наукових досліджень: матеріали науково-практичної конференції (м. Полтава, 27-28 серпня 2021). Херсон: Видавництво "Молодий вчений", 2021. С. 16–20.*

Особистий внесок: спланувала експеримент, виділила РНК та поставила ПЛР з використанням продуктів реакції 3T, оформила тези.

7. Оцінка мови та стилю дисертації

Дисертаційна робота написана чіткою українською мовою. Матеріал дисертації викладено в логічній послідовності та доступний для сприйняття. Зміст, структура, оформлення дисертації та кількість публікацій відповідають вимогам «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 06.03.2019 року №167), Наказу 13 МОН України від 12.01.2017 року №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації». Стиль та викладення матеріалу відповідають прийнятому в науковій літературі.

8. Відповідність змісту дисертації спеціальності, за якою вона подається до захисту

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора філософії Гнатюк Ірини Сергіївни на тему «Застосування прийомів генетичної інженерії для отримання біотехнологічних рослин та редагування геному ріпаку озимого *Brassica napus* L.» є завершеною науково-дослідною працею, зміст якої відповідає зазначеній назві та повністю відповідає спеціальності 091 «Біологія».

9. Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертації

Розглянувши матеріали науково-дослідної роботи Гнатюк І. С. «Застосування прийомів генетичної інженерії для отримання біотехнологічних рослин та редагування геному ріпаку озимого *Brassica napus* L.», комісія Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України дійшла висновку, що біоетичні норми не були порушені, та дозволяє подальше подання цих досліджень на захист із метою одержання наукового ступеня доктора філософії.

Рекомендація дисертації до захисту

Дисертація Гнатюк Ірини Сергіївни на тему: «Застосування прийомів генетичної інженерії для отримання біотехнологічних рослин та редагування геному ріпаку озимого *Brassica napus* L.» є завершеною кваліфікаційною науковою працею, у якій вирішено конкретне наукове завдання стосовно отримання біотехнологічних рослин та створення пратформи для редагування геному озимого ріпаку, що має важливе значення для галузі генетичної інженерії рослин. Робота має наукову новизну, доводить теоретичне та практичне значення отриманих результатів, цілком відповідає поставленій меті та завданням. Сформульовані висновки відповідають завданням наукової роботи, що ґрунтуються на матеріалах власних досліджень. Основні результати, нові наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації, опубліковані в наукових працях, зарахованих за темою дисертації. В роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Дисертація відповідає вимогам п. 10 "Тимчасового порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії", затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №167 від 06 березня 2019 року. Дисертаційна робота І. С. Гнатюк рекомендується для подання до розгляду та захисту у спеціалізованій Вченій раді на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 "Біологія" і спеціальності 091 "Біологія".

Рецензенти:

доктор біологічних наук,
старший науковий
співробітник,
завідувач лабораторії
адаптаційної біотехнології

кандидат біологічних наук,
науковий співробітник



Підпис Матвеева Н.А.
Затверджую Степанов К.В.
Відділ кадрів

Н. А. Матвеева



Підпис Листван К.В.
Затверджую Степанов К.В.
Відділ кадрів

К. В. Листван