

ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення
результатів дисертації Варченко Оксани Іванівни за темою «Вивчення
гетерологічної експресії репортерного гена *gfp* в рослинах
Nicotiana rustica 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:

Рашидов Намік Мамед огли – доктор біологічних наук, професор, завідувач лабораторії біофізики сигнальних систем

Сіндаровська Яна Рудольфівна – кандидат біологічних наук, науковий співробітник

Під час попередньої експертизи дисертації здобувачки відділу генетичної інженерії Інституту клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України Варченко Оксани Іванівни на тему «Вивчення гетерологічної експресії репортерного гена *gfp* в рослинах *Nicotiana rustica* L.», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», рецензенти: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії біофізики сигнальних систем рослин Рашидов Намік Мамед огли та кандидат біологічних наук Сіндаровська Яна Рудольфівна 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 вивченням регуляції експресії генів. Сучасна генетична інженерія рослин виконує такі завдання, які забезпечують поліпшення господарсько-цінних ознак рослин, таких як, стійкість до гербіцидів, біотичних та абіотичних факторів, отримання нових сортів та гібридів, які задовольняють агропромисловий сектор. Іншим завданням є вивчення фундаментальних питань, які б допомагали збільшувати врожайність сільськогосподарських культур, а окремою ланкою генетичної інженерії є синтез рекомбінантних білків у рослинних системах. Успішне виконання таких завдань обумовлюється ефективною та контрольованою експресією гетерологічних генів.

Дисертаційна робота виконувалася в період з 2016 по 2020 роки у відділі генетичної інженерії Інституту клітинної біології і генетичної інженерії НАН України під керівництвом кандидата біологічних наук Ю. В. Симоненка в рамках наукових проектів НАН України Ш-5-16 «Розробка біотехнологій отримання природних та гетерологічних сполук в рослинних системах» та 1230/3 «Вивчення впливу стресових факторів біотичного і абіотичного походження на накопичення вторинних метаболітів та рекомбінантних сполук в генетично змінених та нативних рослинних системах».

2. Наукова новизна результатів дисертаційного дослідження

Наукова новизна одержаних результатів полягає у комплексному вивченні гетерологічної експресії генів, на прикладі репортерного гена *gfp*, а саме:

- уперше

проведено порівняльний аналіз експресії репортерного гена *gfp* при транз'єнтній генетичній трансформації рослин виду *Nicotiana rustica* L. з використанням наступних регуляторних елементів: промоторів – D35SCaMV P, 35SCaMV P, RbcS2B P, RbcS1b P, LHB1B2 P, LHB1B1 P; сигнальних пептидів для спрямування цільового білка в різні компартменти клітини – RbcS, RAmy3A, ScCoxIV; 5'-последовностей, що не транскрибуються – 5'UTR Ω PVX, 5' Ω TMV, 5'UTR CMV1, 5'UTR CMV2, 5'UTR RbcS2B; термінаторів – H4 T, 35S T, Atug7 T, mas T, ATPase T. Встановлено залежність рівня експресії гетерологічного гена *gfp* від регуляторних елементів генетичної конструкції;

- уперше

підтверджено вплив білка-супресора посттранскрипційного сайленсингу генів p19 TBSV на експресію гена рекомбінантного білка GFP при транз'єнтній генетичній трансформації рослин виду *Nicotiana rustica* L.

Удосконалено систему транз'єнтної трансформації рослин виду *Nicotiana rustica* L. за рахунок визначення оптимальної оптичної густини агробактеріальної суспензії.

За результатами досліджень рівнів експресії гена *gfp* та дизайнів генетичних векторів *набули подальшого розвитку* уявлення щодо факторів, які залучені у процеси регуляції експресії генів та ефективності регуляторних елементів.

3. Теоретичне та практичне значення отриманих результатів

Результати дисертаційної роботи можуть слугувати важливим теоретичним підґрунтям при створенні генетичних векторів для транз'єнтної і стабільної трансформації рослин, підвищення ефективності експресії генів та оптимізації процесів отримання рекомбінантних білків, а також сприяти

розвитку перспективних напрямків дослідження процесів регуляції експресії генів.

Результати теоретичних та практичних досліджень застосовані:

- в практичній діяльності ТОВ «БЕТА НК» у процесі створення генетичних конструкцій для трансформації рослин.

4. Особистий внесок здобувача

Аналіз літератури, інформативно-патентний пошук за темою дослідження, проведення експериментальної роботи, обробка отриманих даних, формулювання висновків, підготовка до друку наукових праць, написання всіх розділів дисертації та анотації проведено здобувачем особисто. Формулювання мети, наукових завдань дослідження, планування експериментальної роботи, трактування та узагальнення експериментальних результатів, обговорення висновків дисертації проводились 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 дисертаційних досліджень викладено в 11 наукових працях: п'яти статтях, у т.ч. дві статті, які індексуються у наукометричних базах даних «Scopus», одній статті у періодичному науковому виданні іншої держави, яка входить до країн-членів Європейського Союзу, дві статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України (усі включені до міжнародних наукометричних баз даних), шести тезах матеріалів 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. Варченко О.І., Красюк Б.М., Федчунов О.О., Зіміна О.В., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Створення генетичних конструкцій за допомогою методу клонування Golden Gate // *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 2019. – Т. 25. – С. 190 – 196.

Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, створила генетичні конструкції та провела їх перевірку використовуючи молекулярно-біологічні аналізи, оформила статтю.

2. Varchenko O., Kuchuk M., Parii M., Symonenko Yu. Influence of agroinfiltration conditions on the transient green fluorescent protein expression in *Nicotiana rustica* L. plants // *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, 2020. - Vol. XXIV, No. 1. – P. 17-22.

Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, провела транз'єнтну генетичну трансформацію рослин, проаналізувала інфільтровані тканини, оформила статтю.

3. Варченко О.І., Дзуг М.С., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Вплив білка-супресора посттранскрипційного сайленсингу Р19 на рівень транз'єнтної експресії гена *gfp* в рослинах махорки *Nicotiana rustica* L. // *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 2020. – Т. 26. – С. 169-175.

Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, створила генетичні конструкції, провела транз'єнтну генетичну трансформацію рослин, проаналізувала інфільтровані тканини, оформила статтю.

4. Varchenko O.I., Kuchuk M.V., Parii M.F., and Symonenko Yu.V. Comparison of Gfp Gene Expression Levels after *Agrobacterium*-Mediated

Transient Transformation of *Nicotiana rustica* L. by Constructs with Different Promoter Sequences // *Cytology and Genetics*, 2020, Vol. 54, No. 6, pp. 531–538

Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, провела транз'єнтну генетичну трансформацію рослин, проаналізувала інфільтровані тканини, оформила статтю.

5. Varchenko O.I., Kuchuk M.V., Parii M.F., and Symonenko Yu.V. Matching of the Gfp Gene Expression Levels by Different Terminator Sequences Regulation // *Microbiologichnyi Zhurnal*, 2020, Vol. 82, No. 6, pp. 74–83

Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, створила генетичні конструкції, провела транз'єнтну генетичну трансформацію рослин, проаналізувала інфільтровані тканини, оформила статтю.

6. Варченко О.І., Смірнова В.А., Будзихівська В.А., Зіміна О.В., Парій Я.Ф., Кучук М.В., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Створення конструкцій для вивчення регуляції гетерологічної експресії репортерного гена GFP // «Селекційно-генетична наука і освіта»: Матеріали VI Міжнародної наукової конференції. – Умань. 2017. – с. 54-56.

7. Варченко О.І., Федчунов О.О., Парій Я.Ф., Кучук М.В., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Використання різних промоторних елементів для створення мультигенних конструкцій // «Селекційно-генетична наука і освіта»: Матеріали VII Міжнародної наукової конференції. – Умань. 2018. – с. 42-43.

8. Варченко О.І., Красюк Б.М., Кучук М.В., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Створення генетичних конструкцій з різними термінаторами та 3'-нетранслюючими послідовностями // «Селекційно-генетична наука і освіта»: Матеріали VIII Міжнародної наукової конференції. – Умань. 2019. – с. 32-34.

9. Varchenko O., Kuchuk M., Parii M., Symonenko Yu. Influence of agroinfiltration conditions on the transient green fluorescent protein expression in

Nicotiana rustica L. plants // Proceedings of the International Conference «Agriculture for Life, Life for Agriculture». – Bucharest. Romania, 2020. - p. 27.

10. Красюк Б.М., Варченко О.І., Антіпов І.О., Парій М.Ф., Симоненко Ю.В. Створення генетичних векторів методом Golden Gate з різними 5'UTR's // «Біотехнологія: Звершення та надії» Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції Київ. 2018. – с.74

11. Константінова Д., Варченко О., Пірко Н., Парій М., Симоненко Ю. Порівняння рівня експресії гена *gfp* при *Agrobacterium*-опосередкованій транз'єнтній трансформації рослин махорки *Nicotiana rustica* L. конструкціями з різними послідовностями сигнальних пептидів // «Шевченківська весна: досягнення біологічної науки / bioscience advances»: Матеріали XVIII Міжнародної наукової конференції. – Київ. 2020. – с. 27-30.

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 Варченко Оксани Іванівни на тему «Вивчення гетерологічної експресії

репортерного гена *gfp* в рослинах *Nicotiana rustica* 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 Варченко О.І. «Вивчення гетерологічної експресії репортерного гена *gfp* в рослинах *Nicotiana rustica* L.», комісія Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України дійшла висновку, що не були порушені біоетичні норми та дозволяє подальше подання цих досліджень на захист із метою одержання наукового ступеня доктора філософії.

Рекомендація дисертації до захисту

Дисертація Варченко Оксани Іванівни на тему: «Вивчення гетерологічної експресії репортерного гена *gfp* в рослинах *Nicotiana rustica* L.» є завершеною кваліфікаційною науковою працею, у якій вирішено конкретне наукове завдання стосовно регуляції рівнів експресії генів, 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 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06 березня 2019 року. Дисертаційна робота О.І. Варченко 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:

завідувач лабораторії

сигнальних систем,

доктор біологічних наук, професор Рашидов Намік Мамед огли



науковий співробітник,

кандидат біологічних наук



Сіндаровська Яна Рудольфівна