

ОТЗЫВ

официального рецензента на диссертационную работу

Пожарского Александра Сергеевича на тему «Изучение генофонда и редактирование генома сортов томата казахстанской селекции», предоставленную на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «Биотехнология»

№ п/п	Критерии	Соответствие критериям (подчеркнуть один из вариантов ответа)	Обоснование позиции официального рецензента (замечания выделить курсивом)
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: <u>1) диссертация выполнена в рамках проекта или целевой программы, финансируемого(ой) из государственного бюджета (указать название и номер проекта или программы);</u> 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).	Диссертация выполнена в рамках программы целевого финансирования КН МОН РК BR18574149 «Создание высокопродуктивных сортов и линий сельскохозяйственных культур на основе инновационных биотехнологий» (руководитель Е. К. Турусбеков), а также программы целевого финансирования КН МОН РК BR21882269 «Использование технологии редактирования генома для повышения продуктивности экономически важных культурных растений» (руководитель Д. А. Гриценко)

2.	Важность для науки	<u>Работа вносит существенный вклад в науку, а ее важность хорошо раскрыта.</u>	Работа рассматривает актуальную тему использование методов молекулярной биотехнологии для достижения устойчивости сельскохозяйственных культур к патогенам. Важность работы заключается в новизне применяемых подходов для казахстанской науки, а также в новых экспериментальных данных, подтверждающих исходные предпосылки. Важность работы в достаточной мере раскрыта и обоснована в диссертации со ссылкой на опубликованные научные данные.
3.	Принцип самостоятельности	Уровень самостоятельности: <u>1) высокий;</u> 2) средний; 3) низкий; 4) самостоятельности нет.	Соискатель проявил высокую степень самостоятельности в постановке целей и задач исследований, в поиске и критическом анализе научной литературы по теме, в планировании и проведении экспериментальных работ, а также в интерпретации полученных данных и подготовке результатов к публикации.
4.		4.1 Обоснование актуальности диссертации:	Актуальность

Принцип внутреннего единства		
<u>1) обоснована;</u> 2) частично обоснована; 3) не обоснована.	4.2 Содержание диссертации отражает тему диссертации: <u>1) отражает;</u> 2) частично отражает; 3) не отражает. 4.3. Цель и задачи соответствуют теме диссертации: <u>1) соответствуют;</u>	диссертационной работы обоснована. Томат является одной из основных овощных культур в Казахстане, однако зависимость от импорта семенного материала и слабое использование современных молекулярных подходов в селекции томата в республике увеличивает уязвимость хозяйства перед различными инфекциями. Таким образом, поставленная цель работы — молекулярно-генетический анализ сортов томата казахстанской селекции, отбор и редактирование генома перспективных сортов для получения растений, устойчивых к грибковым заболеваниям — отражает высокую актуальность темы и важность для последующего развития молекулярной селекции томата в Казахстане
		Содержание диссертации полностью отражает выбранную тему и последовательно реализует поставленные цели и задачи.
		Цели и задачи соответствуют теме диссертации и обеспечивают разностороннее

	2) частично соответствуют; 3) не соответствуют. 4.4 Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны: 1) полностью взаимосвязаны; <u>2) взаимосвязь частичная;</u> 3) взаимосвязь отсутствует.	рассмотрение выбранного направления исследования Работа состоит из 3 основных разделов, соответствующих поставленным задачам. Каждый из разделов может быть представлен как самостоятельная работа, однако логические связи между ними хорошо обоснованы и обеспечивают их целостный вклад в реализацию поставленных целей
5.	Принцип научной новизны 4.5 Предложенные автором новые решения (принципы, методы) аргументированы и оценены по сравнению с известными решениями: <u>1) критический анализ есть;</u> 2) анализ частичный; 3) анализ представляет собой не собственные мнения, а цитаты других авторов; 4) анализ отсутствует. 5.1 Научные результаты и положения являются новыми? 1) полностью новые; <u>2) частично новые (новыми являются 25-75%);</u> 3) не новые (новыми являются менее 25%).	Предложенные автором результаты критически аргументированы как на основе текущего состояния поставленных проблем, так и с учетом достижений и развития науки Казахстана Результаты работы являются новыми для Казахстанской науки и частично новыми для мировой науки. Молекулярно-генетический анализ местной селекционной коллекции сортов томата проведен впервые и предоставляет новые данные о генетической

		структуре отечественных сортов томата. Результаты редактирования генома томата подтверждают данные об участии гена <i>SlMol1</i>. Филогенетический анализ генов и белков MLO вносит вклад в понимание эволюции генов группы MLO в отношении устойчивости растений к мучнистой росе.
		5.2 Выводы диссертации являются новыми? 1) полностью новые; 2) частично новые (новыми являются 25-75%); 3) не новые (новыми являются менее 25%).
		5.3 Технические, технологические, экономические или управленческие решения являются новыми и обоснованными: 1) полностью новые; 2) частично новые (новыми являются 25-75%); 3) не новые (новыми являются менее 25%).
6.	Обоснованность основных выводов	Все основные выводы основаны/не основаны на весомых с научной точки зрения доказательствах либо достаточно хорошо обоснованы (для qualitative research (квалитатив ресеч) и направлений подготовки по искусству и гуманитарным наукам).
		В структуре отечественных сортов томата. Результаты редактирования генома томата подтверждают данные об участии гена <i>SlMol1</i>. Филогенетический анализ генов и белков MLO вносит вклад в понимание эволюции генов группы MLO в отношении устойчивости растений к мучнистой росе. Выводы диссертации полностью отражают полученные результаты и их новизну. В исследовании использованы технические решения и подходы, апробированные в зарубежных исследованиях, но впервые применяемые для решения поставленных целей и задач в Казахстане, что обуславливает их частичную новизну. Все сформулированные выводы основаны на обстоятельно изученном массиве данных зарубежных и отечественных исследований, а также корректном применении научно обоснованных

		методов экспериментальной работы, анализа и интерпретации данных.
7.	Основные положения, выносимые на защиту	Необходимо ответить на следующие вопросы по каждому положению в отдельности: 7.1 Доказано ли положение? 1) доказано; 2) скорее доказано; 3) скорее не доказано; 4) не доказано; 5) в текущей формулировке проверить доказанность положения невозможно. 7.2 Является ли тривиальным? 1) да; 2) нет; 3) в текущей формулировке проверить тривиальность положения невозможно. 7.3 Является ли новым? 1) да; 2) нет; 3) в текущей формулировке проверить новизну положения невозможно. 7.4 Уровень для применения: 1) узкий; 2) средний; 3) широкий;
		1. Отечественные сорта томата открытого грунта обладают высокой степенью родства и близки к сортам российской селекции, с частотами совпадений SSR-генотипов 60-100% и оценкой сходства по алгоритму STRUSTRUCTURE до 90-95%. Не выявлено казахстанских сортов, несущих маркеры устойчивости к вирусным заболеваниям. Установлено семь казахстанских сортов, устойчивых к <i>F. oxysporum</i>, и два сорта – к <i>P. infestans</i>. Сорта Меруерт и Лидер выбраны как перспективные для проведения редактирования генома системой CRISPR/Cas9. 7.1 Доказано 7.2 Нет 7.3 Да 7.4 Средний

	4) в текущей формулировке проверить уровень применения положения невозможно. 7.5 Доказано ли в статье? 1) да; 2) нет; 3) в текущей формулировке проверить доказанность положения в статье невозможно.	7.5 Да 2. Мутации в генах SIMlo5 и SIMlo8 не приводят к увеличению резистентности по сравнению с одним геном SIMlo1, что подтверждается Р-значениями t-теста Уэлча, значительно превышающими порог значимости 0,05, с учетом поправки на иножественныесравнения. Секвенирование целевых участков релактирования генов SIMlo подтверждает наличие генетического мозаицизма: от 20 до 50% прочтений, покрывающих область делеции, демонстрирует отсутствие делеции. Приобретаемая устойчивость к мучнистой росе сохраняется при мозаицизме, что показано отсутствием значимого эффекта при сравнении линий с полным проявлении мутаций с мозаичными линиями тестом Уэлча при пороге значимости 0,05. 7.1 Доказано 7.2 Нет 7.3 Да 7.4 Средний
--	--	---

		7.5 в текущей формулировке проверить доказанность положений в статье невозможно. 3. Выявлен высокий консерватизм последовательностей SIMlo1, SIMlo5, SIMlo8 генов в кодирующих регионах (отсутствие вариантов в гене SIMlo1, 2 синонимичных варианта в гене SIMlo5, 2 синонимичных и 2 миссенс замены в гене SIMlo8), на основе имеющихся данных по геномной изменчивости 166 линий томата. В частности, была подтверждена инвариантность выбранных сайтов узнавания nРНК. Таким образом, разработанные nРНК могут использоваться на любых сортах и линиях томата с высоким шансом на специфичность редактирования благодаря 100% консервативности выбранных сайтов узнавания. 7.1 Доказано 7.2 Нет 7.3 Да 7.4 Широкий
--	--	---

			7.5 Да
8.	Принцип достоверности.	8.1 Выбор методологии - обоснован или методология достаточно подробно описана:	Выбранная методология подробно описана и обоснована поставленными задачами
	Достоверность источников и предоставляемой информации	<u>1) да;</u> 2) нет.	Результаты диссертационного исследования получен с использованием современных методов молекулярной генетики, биотехнологии и генетической инженерии, а также методов компьютерного анализа данных
		8.2 Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий:	
		<u>1) да;</u> 2) нет.	Все обсуждаемые теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены результатами экспериментальных исследований.
		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):	
		<u>1) да;</u> 2) нет.	Все основные обсуждаемые утверждения подтверждены ссылками на актуальную и достоверную научную литературу.
		8.4 Важные утверждения <u>подтверждены</u> /частично подтверждены/не подтверждены ссылками на актуальную и достоверную научную литературу.	

		8.5 Использованные источники литературы <u>достаточно</u> /не достаточно для литературного обзора.	Использованные источники литературы достаточно для литературного обзора по теме диссертации. Диссертация включает в общей сложности 228 источников, в том числе 222 источника на английском языке.
9	Принцип практической ценности	9.1 Диссертация имеет теоретическое значение: 1) <u>да</u>; 2) нет. 9.2 Диссертация имеет практическое значение и существует высокая вероятность применения полученных результатов на практике: 1) <u>да</u>; 2) нет.	Теоретическое значение диссертации заключается во впервые проведенной молекулярной характеристики сортов томата казахстанской селекции, а также в обновленных данных по эволюции белков и генов группы МЛО у высших растений Практическая значимость работы заключается в первом использовании технологии редактирования генома томата для обеспечения устойчивости к грибковым заболеваниям в Казахстане, а также в создании методологической основы по использованию редактирования генома

		растений в местных селекционных программах Предложенная технология редактирования генома являются новой для селекционных практик в Казахстане
	9.3 Предложения для практики являются новыми: 1) полностью новые; 2) частично новые (новыми являются 25-75%); 3) не новые (новыми являются менее 25%).	
10.	Качество написания и оформления	Диссертационная работа написана на высокой академическом уровне, с соблюдением общепринятых принципов изложения научного текста и норм научного стиля речи, а также корректное использования ссылок на цитируемые источники
11.	Замечания к диссертации	Основным замечанием к диссертационной работе является отсутствие законченных результатов, пригодных для практической селекции: полученный материал является промежуточными трансгенными лабораторными линиями, требующих дальнейшей работы для получения стабильных и генетически однородных, transgene-free, линий для практического использования. Однако, принимая во внимание трудоемкость таких работ и временные ограничения диссертационного исследования, а также тот факт, что автор не заявлял своей целью получение стабильных чистых линий растений, полученный результат является достаточным для диссертации. Также следует отметить, что при анализе полученных линий растений использовалась минимально достаточные выборки для статистического анализа, что допускает вероятность ошибок в интерпретации эффектов редактирования генома. Однако автор учитывает этот фактор и в своих выводах остается в рамках использованных критериев достоверности и не делает необоснованных заключений. Таким образом, исследование проведено и статистически интерпретировано корректно в заданных рамках. Автору диссертации рекомендуется дальнейшее продолжение работы для полноценного результата по выбранной теме, а именно получения стабильных нетрансгенных линий томат, пригодных для

		использования в селекционных программах. Тем не менее, выполненный объем работы и полученные результаты в их нынешней форма соответствуют критериям диссертационной работы и могут быть рассмотрены для защиты.
12.	Научный уровень статей докторанта по теме исследования (в случае защиты диссертации в форме серии статей официальные рецензенты комментируют научный уровень каждой статьи докторанта по теме исследования)	Результаты по теме исследования изложены в 3 статьях в журналах, входящих в Q1-Q2 базы данных Web of Science, в 1 статья в журнале, рекомендованных КОКСНВО, а также в тезисах международных и местных конференций и в опубликованных методических рекомендациях. Публикации написаны на высоком научном уровне и в качественном академическом изложении, и поддерживают результаты изложенные в диссертации.
13.	Решение официального рецензента (согласно пункту 28 настоящего Типового положения)	На основании вышеизложенного диссертационная работа Пожарского А. С. может быть рекомендована для присуждения соискателю степени Ph.D. по специальности «Биотехнология»

Официальный рецензент:

Заведующий кафедры биотехнологии и микробиологии,
Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева,
ассоц профессор, PhD.



Масалимов Ж. К.