

**Заключение диссертационного совета МГУ.03.01**  
**по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук**

Решение диссертационного совета от «19» ноября 2020 г. № 13

О присуждении Хромову Андрею Владимировичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Бесплазмидное редактирование генома растений картофеля системой CRISPR/Cas9» по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология» принята к защите диссертационным советом 08.10.2020, протокол № 9.

Соискатель Хромов Андрей Владимирович 1985 года рождения, в 2016 году окончил ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева по специальности 35.04.04 - «Агрономия». Соискатель в настоящее время не работает.

Диссертация выполнена в лаборатории генной инженерии вирусов отдела биохимии вирусов растений НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, МГУ имени М.В.Ломоносова.

Научный руководитель – доктор биологических наук, **Калинина Наталья Олеговна**, ведущий научный сотрудник отдела биохимии вирусов растений НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, МГУ имени М.В.Ломоносова.

Официальные оппоненты:

**Чирков Сергей Николаевич**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры вирусологии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова;

**Соловьев Александр Александрович**, доктор биологических наук, заместитель директора по научной и образовательной деятельности ФГБПУ ВНИИСБ, заведующий лабораторией маркерной и геномной селекции растений, профессор РАН;

**Эльдаров Михаил Анатольевич**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель группы генетической инженерии грибов ФГБУН ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Институт Биоинженерии;

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 6 работ, из них 5 статей, опубликованных, в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 03.01.03 -

«Молекулярная биология»:

1. **А. В. Хромов**, В. А. Гущин, В. И. Тимербаев, Н. О. Калинина, М. Э. Тальянский, и В. В. Макаров. Конструирование гидовых рнк для редактирования генома картофеля с использованием системы CRISPR/Cas9. Доклады Академии наук, 479(3):343–347, 2018. IF= 1.058 (RINC 2018)

2. **А. В. Хромов**, А. В. Махотенко, Е. В. Снигирь, С. С. Макарова, В. В. Макаров, Т. П. Супрунова, Н. О. Калинина, и М. Э. Тальянский. Доставка рибонуклеопротеидного комплекса crispr/cas9 в клетки апикальной меристемы для бесплазмидного редактирования генома картофеля *solanum tuberosum*. Биотехнология, 34(6), 2018. IF= 0.557 (RINC 2018)

3. А. В. Махотенко, **А. В. Хромов**, Е. А. Снигирь, С. С. Макарова, В. В. Макаров, Т. П. Супрунова, Н. О. Калинина, and М. Э. Тальянский. Функциональный анализ роли коилина в устойчивости растений картофеля *solanum tuberosum* к вирусной инфекции и абиотическим стрессам с использованием системы редактирования crispr/cas9. Доклады Академии наук, 484(6):772–776, 2019. (равный вклад двух первых авторов) IF= 1.058 (RINC 2018)

4. С. С. Макарова, **А. В. Хромов**, Н. А. Спеченкова, М. Э. Тальянский, and Н. О. Калининна. Использование системы crispr/cas для создания растений, устойчивых к патогенам. Биохимия, 84(1):24–37, 2019. IF = 2.178 (RINC 2018)

5. Natalia O. Kalinina, **Andrey Khromov**, Andrew J. Love, and Michael Taliansky. Crispr applications in plant virology: virus resistance and beyond. Phytopathology, 2019. IF =1.23 (SJR 2019)

и патент РФ

**RU2663347C1**: Долгов С.В., Калинина Н.О., Макаров В.В., Макарова С.С., Махотенко А.В., Мирошниченко Д.Н., Снигирь Е.А., Супрунова Т.П., Тальянский М.Э., Тимирбаев В.Р., **Хромов А.В.** (2018). Способ доставки биологически активных макромолекул в клетки растений

На диссертацию и автореферат поступило 2 отзыва, оба положительные, замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их высокой компетентностью в области молекулярной биологии растений и наличием публикаций в данной сфере исследований.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований был проведен

дизайн кгРНК к генам коилина и фитоеен десатуразы картофеля, также была проведена оценка их *in vitro* активности в комплексе с эндонуклеазой Cas9. Была проведена разработка платформы эффективной доставки иммобилизованных редактирующих комплексов на основе микрочастиц хитозана в клетки растений белков и коротких РНК с помощью инфльтрации. Полученная платформа защищена патентом РФ. Технологией бесплазмидной доставки редактирующих комплексов CRISPR/Cas9 и кгРНК были отредактированы два гена картофеля - ген коилина и фитоеен десатуразы. Впервые было показано наличие протяжённых делеций в клетках меристемы картофеля. Было показано, что полученные линии, отредактированные по гену коилина, являются более устойчивыми к заражению Y-вирусом картофеля (YBK, род *Potyvirus*) и к абиотическим осмотическому и солевому стрессам в опытах *in vitro* и *in vivo* и полевых условиях.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Дизайн коротких гидовых РНК (кгРНК) к консервативным участкам генов фитоеен десатуразы и коилина растений картофеля *Solanum tuberosum* L. и оценка *in vitro* эффективности синтезированных кгРНК в разрезании целевого участка генов рекомбинантной эндонуклеазой Cas9 позволяет отобрать активные кгРНК для последующего редактирования генов.

2. Способ доставки в клетки растений *N. benthamiana* и *S. tuberosum* платформ на основе микрочастиц хитозана с иммобилизованными на их поверхности флуоресцентно мечеными модельными белками и короткими РНК с помощью инфльтрации комплексов в листья растений позволяет эффективно доставлять биомолекулы в клетки эпидермиса.

3. С использованием бесплазмидных технологий для доставки редактирующих компонентов системы CRISPR/Cas9 в клетки растений картофеля проведено редактирование двух генов – гена *PDS* и гена коилина.

4. Редактирование генов в клетках меристемы картофеля сопровождается образованием протяженных делеций.

5. Редактированные по гену коилина линии растений-регенерантов картофеля характеризуются повышенной устойчивостью к заражению Y-вирусом картофеля (YBK, род *Potyvirus*) и к абиотическим осмотическому и солевому стрессам в опытах *in vitro* и *in vivo* и полевых условиях.

На заседании 19.11.2020 диссертационный совет принял решение присудить Хромову Андрею Владимировичу ученую степень кандидата наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек,

из них 7 докторов наук по специальности молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 15, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя  
диссертационного совета  
д.б.н., профессор

Карпова О.В.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, д.б.н.

Комарова Т.В.

23.11.2020