

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0822U100497

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 31-01-2022

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Гнатюк Ірина Сергіївна

2. Hnatiuk Iryna Serhiivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія. Біологія

Галузь / галузі знань:

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 27-01-2022

Спеціальність за освітою: Молекулярна біотехнологія

Місце роботи здобувача: Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 04591245

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 148, м. Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 26.202.002

Повне найменування юридичної особи: Інститут клітинної біології та генетичної інженерії
Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 04591245

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 148, м. Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут клітинної біології та генетичної інженерії
Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 04591245

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 148, м. Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 62.37.29, 68.35.37

Тема дисертації:

1. Застосування прийомів генетичної інженерії для отримання біотехнологічних рослин та редагування геному ріпаку озимого *Brassica napus* L.
2. Genetic engineering techniques application for biotechnological plants obtaining and genome editing of winter rape *Brassica napus* L.

Реферат:

1. Метою дисертаційного дослідження було отримання біотехнологічних рослин комерційної лінії озимого ріпаку *B. napus* L. української селекції, а також створення платформи для редагування геному озимого ріпаку з використанням системи CRISPR/Cas9 та прийомів генетичної інженерії. У роботі використано такі методи досліджень: аналіз наукової літератури; лабораторні методи (культивування тканин рослин *in vitro*, *Agrobacterium*-опосередкована генетична трансформація, полімеразна ланцюгова реакція, імуноферментний аналіз, гістохімічний метод визначення активності гена *p*-глюкуронідази, метод молекулярного клонування Golden Gate); біоінформаційні (комп'ютерне моделювання *in silico* генетичних векторів), фізіологічні (вирощування та аналіз трансгенних рослин в умовах *in vivo*), статистичні (обробка

отриманих результатів). 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 при застосування якої не відбувається соматональна мінливість *in vitro*; - оптимізовано умови *Agrobacterium*-опосередкованої генетичної трансформації озимого ріпаку лінії Bn1 української селекції та створено біотехнологічні рослини, 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 синтезу 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. 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 (акт впровадження результатів науково-дослідної роботи подано у Додатку Б); - можуть представляти інтерес для наукових та навчальних закладів, зокрема під час викладання біотехнології та генетики рослин.

2. The aim of thesis research was to develop an effective genetic transformation method of Ukrainian breeding winter rapeseed and to create a genome editing platform in order to improve valuable economic characteristics. The following research methods were used in work: analysis of scientific papers; laboratory methods (in vitro plant tissue culture, *Agrobacterium*-mediated genetic transformation, polymerase chain reaction, enzyme-linked immunosorbent assay, histochemical method for determining the β -glucuronidase activity, Golden Gate molecular cloning method); bioinformational (for in silico computer modeling of genetic vectors), physiological (for in vivo growing and analyzing of transgenic plants), statistical (for processing the results). The scientific novelty of the obtained results consist in the development of genome editing platform of Ukrainian breeding winter rapeseed, namely for the first time: - an effective regeneration system of *B. napus* L., which allows to obtain T0 seeds in one year after the beginning of experiments and does not lead to the of somaclonal variability in vitro, was developed; - the Bn1 line Ukrainian breeding winter rape *Agrobacterium*-mediated genetic transformation conditions were optimized and phosphinothricin resistant biotechnological plants were created; - glyphosate resistant transgenic plants of Bn1 line winter rapeseed were created as a result of genetic transformation by constructions pCB133, pCB135 and pSPG2254; - a genetic vector pSPE2053, which carries the bacterial endonuclease Cas9 gene was created; transgenic lines of winter oilseed rape were obtained using this vector, these lines will be used in breeding programs for genome editing; - a genetic construct pSPE2058, carrying the bacterial endonuclease Cas9 gene, Aa1 and Aa2 guide sequences for rapeseed genome editing in order to accumulate oleic acid, and the selective phosphinothricin-N-acetyltransferase bar gene was created; the construct will be used to create high oleic Ukrainian breeding winter rape lines. The practical significance of the results. Biotechnological plants of Ukrainian breeding Bn1 line winter rapeseed, resistant to the glyphosate, may be used in further experimental studies and breeding programs. In addition, a genetic construct based on CRISPR/Cas9 system was created and biotechnological plants carrying the bacterial endonuclease synthesis Cas9 gene were obtained as a platform for the rapeseed genome editing. The results of theoretical and practical research: - are applied in practical activity of Ltd "BETA NK" during creation of winter rape biotechnological plants with qualitatively new traits (the research results implementation act is presented in Appendix B); - may be of interest to research and educational

institutions, in particular during the teaching of biotechnology and plant genetics.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Симоненко Юрій Вікторович
2. Symonenko Yuriy Viktorovych

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Ісаєнков Станіслав Валентинович
2. Isayenkov Stanislav Valentynovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Бабенко Лідія Михайлівна

2. Babenko Lidia M

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.12

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Листван Катерина Володимирівна

2. Lystvan Kateryna Volodymyrivna

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Матвеева Надія Анатоліївна

2. Matvieieva Nadiya A.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Кравець Олександра Петрівна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Кравець Олександра Петрівна

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Реєстратор

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Т.А.