

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.088.01
(Д 002.214.01) НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ
ГЕНЕТИКИ ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК**

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 19.09.2024 протокол № 21
О присуждении Кирову Илье Владимировичу, гражданину Российской
Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Особенности организации повторяющихся элементов геномов растений, выявленные с помощью новых омиксных подходов» по специальности 1.5.7 – генетика принята к защите 10.06.2024 г., протокол №18, диссертационным советом 24.1.088.01 (Д 002.214.01) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д.3, приказ Минобрнауки Российской Федерации № 105/нк от 11.04.2012.

Соискатель Киров Илья Владимирович, гражданин РФ, 1989 года рождения, в 2012 г. с отличием окончил РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Агробиотехнологический факультет, по направлению подготовки «агрономия» с присуждением квалификации (степени) «магистр». В 2012 г. поступил в аспирантуру РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Будучи сотрудником РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, выполнил и в 2015 г. защитил кандидатскую диссертацию «Разработка и применение высочувствительного метода физического картирования генов на хромосомах растений» с присвоением ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика. С 2015 г. Киров И.В. работал в должности ассистента, а с 2017 г. – в должности старшего преподавателя кафедры генетики, биотехнологии, селекции и

семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. С 2019 г. Киров И.В. является сотрудником Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ).

Докторская диссертация «Особенности организации повторяющихся элементов геномов растений, выявленные с помощью новых омиксных подходов» выполнена в лаборатории маркерной и геномной селекции растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии».

В период подготовки диссертации с 2019 по 2022 гг. Киров Илья Владимирович работал в лаборатории маркерной и геномной селекции растений ФГБНУ ВНИИСБ сначала в должности старшего научного сотрудника, затем с 2022 г. в должности заведующего лабораторией. С 2022 г. и по настоящее время он также является заведующим лабораторией системной геномики и мобиломики растений (по совместительству) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)».

Научный консультант – доктор биологических наук, профессор РАН Соловьев Александр Александрович, заместитель директора ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», Московская область, г.о. Раменский.

Официальные оппоненты:

1. Кулуев Булат Разяпович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией геномики растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа.

2. Салина Елена Артемовна – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий отделом молекулярной генетики растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

3. Самсонова Мария Георгиевна – доктор биологических наук, заведующий научно-исследовательской лабораторией «Научно-исследовательская лаборатория математической биологии и биоинформатики» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», г. Санкт-Петербург.

Выбор официальных оппонентов определялся их большим опытом в области генетики растений, биоинформатики и цитогенетики, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы. Официальные оппоненты дали положительные отзывы. Высказаны замечания и комментарии. Замечания носят рекомендательный и дискуссионный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания и комментарии представлены в стенограмме заседания.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, в своем положительном заключении, утвержденным директором, доктором биологических наук Демаковым Сергеем Анатольевичем и составленном доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории цитогенетики животных Романенко Светланой Анатольевной, указала, что диссертационная работа Кирова И.В. выполнена на высоком методическом уровне и является законченным трудом. По содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню, практической и

теоретической значимости полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям "Положения о порядке присуждения научных степеней", утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор, Киров Илья Владимирович, заслуживает присуждение искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.7 - генетика. Отзыв не содержит критических замечаний, в нем имеется ряд вопросов к диссертанту. Ответ на отзыв присутствует в стенограмме заседания. Выбор ведущей организации обоснован высоким уровнем проводимых в ней исследований в области генетики и цитогенетики, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Соискателем опубликовано 42 научных статьи в журналах, рекомендованных ВАК, из них 18 научных статей (11 статей Q1 WoS) и 1 патент на изобретение относятся к теме диссертации. В опубликованных работах полностью изложен материал диссертации. Научные результаты, описанные в диссертационной работе, получены соискателем лично или под ее непосредственным руководством (планирование экспериментов, анализ и обсуждение результатов, подготовка, написание и редактирование статей и патентных заявок) в соавторстве с сотрудниками ФГБНУ ВНИИСБ, фамилии которых представлены в соответствующих публикациях. Авторский вклад Кирова И.В. в публикациях, представленных в списке, является важнейшим и определяющим. Наиболее значительными являются следующие публикации:

1. Merkulov, P.; Gvaramiya, S.; Dudnikov, M.; Komakhin, R.; Omarov, M.; Kocheshkova, A.; Konstantinov, Z.; Soloviev, A.; Karlov, G.; Divashuk, M.; **Kirov, I.** Cas9-Targeted Nanopore Sequencing Rapidly Elucidates the Transposition Preferences and DNA Methylation Profiles of Mobile

- Elements in Plants. *Journal of Integrative Plant Biology* **2023**, *65*, 2242–2261.
2. Polkhovskaya, E.; Bolotina, A.; Merkulov, P.; Dudnikov, M.; Soloviev, A.; **Kirov, I.** Long-Read cDNA Sequencing Revealed Novel Expressed Genes and Dynamic Transcriptome Landscape of *Triticale* (x *Triticosecale* Wittmack) Seed at Different Developing Stages. *Agronomy* **2023**, *13*, 292.
 3. **Kirov, I.** Toward Transgene-Free Transposon-Mediated Biological Mutagenesis for Plant Breeding. *International Journal of Molecular Sciences* **2023**, *24*, 17054.
 4. **Kirov, I.**; Kolganova, E.; Dudnikov, M.; Yurkevich, O.Y.; Amosova, A.V.; Muravenko, O.V. A Pipeline NanoTRF as a New Tool for De Novo Satellite DNA Identification in the Raw Nanopore Sequencing Reads of Plant Genomes. *Plants* **2022**, *11*, 2103.
 5. **Kirov, I.**; Merkulov, P.; Polkhovskaya, E.; Konstantinov, Z.; Kazancev, M.; Saenko, K.; Polkhovskiy, A.; Dudnikov, M.; Garibyan, T.; Demurin, Y.; et al. Epigenetic Stress and Long-Read cDNA Sequencing of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Revealed the Origin of the Plant Retrotranscriptome. *Plants* **2022**, *11*, 3579.
 6. Penin, A.A.; Kasianov, A.S.; Klepikova, A.V.; **Kirov, I.V.**; Gerasimov, E.S.; Fesenko, A.N.; Logacheva, M.D. High-Resolution Transcriptome Atlas and Improved Genome Assembly of Common Buckwheat, *Fagopyrum esculentum*. *Frontiers in plant science* **2021**, *12*, 612382.
 7. **Kirov, I.**; Merkulov, P.; Dudnikov, M.; Polkhovskaya, E.; Komakhin, R.A.; Konstantinov, Z.; Gvaramiya, S.; Ermolaev, A.; Kudryavtseva, N.; Gilyok, M.; et al. Transposons Hidden in *Arabidopsis thaliana* Genome Assembly Gaps and Mobilization of Non-Autonomous LTR Retrotransposons Unravelling by Nanotei Pipeline. *Plants* **2021**, *10*, 2681.
 8. **Kirov, I.**; Odintsov, S.; Omarov, M.; Gvaramiya, S.; Merkulov, P.; Dudnikov, M.; Ermolaev, A.; Laere, K.V.; Soloviev, A.; Khrustaleva, L. Functional *Allium fistulosum* Centromeres Comprise Arrays of a Long

- Satellite Repeat, Insertions of Retrotransposons and Chloroplast DNA. *Frontiers in Plant Science* **2020**, *11*, 562001.
9. **Kirov, I.**; Omarov, M.; Merkulov, P.; Dudnikov, M.; Gvaramiya, S.; Kolganova, E.; Komakhin, R.; Karlov, G.; Soloviev, A. Genomic and Transcriptomic Survey Provides New Insight into the Organization and Transposition Activity of Highly Expressed LTR Retrotransposons of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International journal of molecular sciences* **2020**, *21*, 9331.
 10. **Kirov, I.**; Dudnikov, M.; Merkulov, P.; Shingaliev, A.; Omarov, M.; Kolganova, E.; Sigaeva, A.; Karlov, G.; Soloviev, A. Nanopore RNA Sequencing Revealed Long Non-Coding and LTR Retrotransposon-Related RNAs Expressed at Early Stages of Triticale seed Development. *Plants* **2020**, *9*, 1794.
 11. Fesenko, I.; **Kirov, I.**; Filippova, A. Impact of Noncoding Part of the Genome on the Proteome Plasticity of the Eukaryotic Cell. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* **2018**, *44*, 397–402.
 12. Saint-Oyant, L.H.; Ruttink, T.; Hamama, L.; **Kirov, I.**; Lakhwani, D.; Zhou, N.-N.; Bourke, P.; Daccord, N.; Leus, L.; Schulz, D.; et al. A High-Quality Genome Sequence of *Rosa chinensis* to Elucidate Ornamental Traits. *Nature plants* **2018**, *4*, 473–484.
 13. **Kirov, I.**; Gilyok, M.; Knyazev, A.; Fesenko, I. Pilot Satellitome Analysis of the Model Plant, *Physcomitrella patens*, Revealed a Transcribed and High-Copy IGS Related Tandem Repeat. *Comparative Cytogenetics* **2018**, *12*, 493.
 14. Van Laere K.; Van Huylenbroeck J.; **Kirov I.**, Khrustaleva L. Cytogenetic approaches enhance advanced breeding in woody ornamental species. *Acta Horticulturae* **2018**, 1191, 9-16.
 15. **Kirov, I.**; Khrustaleva, L.; Laere, K.V.; Soloviev, A.; Meeus, S.; Romanov, D.; Fesenko, I. DRAWID: User-Friendly Java Software for Chromosome Measurements and Idiogram Drawing. *Comparative cytogenetics* **2017**, *11*, 747.

16. **Kirov, I.V.**; Kiseleva, A.V.; Laere, K.V.; Roy, N.V.; Khrustaleva, L.I. Tandem Repeats of *Allium fistulosum* Associated with Major Chromosomal Landmarks. *Molecular Genetics and Genomics* **2017**, 292, 453–464.
17. **Kirov, I.V.**; Laere, K.V.; Roy, N.V.; Khrustaleva, L.I. Towards a FISH-Based Karyotype of *Rosa* L. (Rosaceae). *Comparative Cytogenetics* **2016**, 10, 543.
18. **Kirov I.V.**; Khrustaleva L.I.; Van Laere K.; Van Roy N. Molecular cytogenetics in the genus *Rosa*: current status and future perspectives. *Acta Horticulturae* **2015**, 1087, 41-48.

На автореферат диссертации отзывы прислали:

1. Потокина Елена Кирилловна – д.б.н., профессор Проектного Центра Агротехнологий, Сколковский институт науки и технологий (Сколтех). Отзыв положительный, содержит два замечания. Ответы на замечания присутствуют в стенограмме заседания.
2. Афонников Дмитрий Аркадьевич – д.б.н., доцент, в.н.с. лаборатории эволюционной биоинформатики и теоретической генетики ФГБНУ ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН». Отзыв положительный, без замечаний.
3. Карпачев Владимир Владимирович – д.с.-х.н, профессор, член-корреспондент РАН, г.н.с. отдела селекции и семеноводства рапса Липецкого научно- исследовательского института рапса - филиала ФГБНУ ФНЦ «ВНИИМК им. В.С. Пустовойта». Отзыв положительный, без замечаний.
4. Демурин Яков Николаевич – д.б.н., профессор, г.н.с. лаборатории генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта. Отзыв положительный, без замечаний.

5. Шеваль Евгений Валерьевич – д.б.н., заведующий лабораторией ультраструктуры клеточного ядра Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Отзыв положительный, без замечаний.
6. Пономарева Мира Леонидовна – д.б.н., профессор, г.н.с. Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук». Отзыв положительный, без замечаний.
7. Лутова Людмила Алексеевна – д.б.н., профессор кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет». Отзыв положительный, содержит два вопроса. Ответы на вопросы присутствуют в стенограмме заседания.
8. Беспалова Людмила Андреевна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко». Отзыв положительный, без замечаний.
9. Гусев Олег Александрович – к.б.н., руководитель центра Регуляторная геномика, Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета. Отзыв положительный, без замечаний.

Диссертационный совет отмечает, что работа выполнена на актуальную тему, посвящена системному изучению повторяющихся элементов (сателлитных повторов и мобильных элементов) геномов разных видов растений (однодольные (*Allium cepa*, *A. fistulosum*, *x Triticosecale*,

Triticum aestivum), двудольные (*Rosa wichurana*, *R. gallica*, *R. rugosa*, *R. foetida*, *R. chinensis*, *Helianthus annuus*, *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*) и мох (*Physcomitrium patens*)) и включает создание арсенала новых молекулярных и биоинформатических подходов для идентификации и характеристики повторяющихся последовательностей с помощью омиксных данных.

Научная новизна исследования заключается в том, что разработан комплекс биоинформатических и молекулярно-биотехнологических методов, направленных на идентификацию новых повторяющихся элементов геномов растений и изучение генетической вариабельности, обусловленной этими элементами, включая поиск новых инсерций мобильных элементов. Использование этих методов позволило впервые изучить на геномном и постгеномном уровнях повторяющиеся элементы генома как важных сельскохозяйственных (подсолнечник, гречиха, лук, тритикале, роза), так и модельных (арабидопсис, мох (*Physcomitrium patens*)) растений. Биоинформатические программы (NanoCasTE и panotei) и молекулярный метод CANS, разработанные для детекции инсерций мобильных элементов в геноме, позволили впервые установить закономерности распределения соматических инсерций ретротранспозонов в геноме. Полученные сведения впервые позволили показать связь между частотой инсерций, определёнными хромосомными (центромерные регионы) регионами, и эпигенетическими и транскриптомными особенностями генома.

В работе впервые выделен и изучен набор новых высококопийных тандемных повторов для разных видов растений (*Allium fistulosum*: AfiCen1K; *Allium cepa*: TR2CL37, *Rosa wichurana* CL8, CL24; *Rosa chinensis*: CL226; 19 повторов для *Physcomitrium patens*), что представляет уникальные инструменты для молекулярных и эволюционных исследований генома растений. В работе были идентифицированы и детально изучены на митотических и мейотических хромосомах повторяющиеся

последовательности и организация центромер *A. cepa* и *A. fistulosum*. Полученные результаты впервые показывают, что центромеры хромосом *A. fistulosum* содержат длинный (~1,25 т.п.н.) тандемный повтор AfiCen1K, а также вставки ретротранспозонов и ДНК органелл. Полученные сведения о сателлитных повторах позволили впервые провести дизайн системы хромосомных маркеров для видов луковых и роз, что может быть использовано для интегрирования физических и генетических карт, а также улучшения полногеномной сборки. Полученные сведения позволили провести аннотацию центромерных последовательностей в собранном геноме *Rosa chinensis* и провести интегрирование хромосомных и геномных карт в рамках международного проекта по секвенированию генома.

Впервые показано, что десятки LTR ретротранспозонов и сателлитные повторы экспрессируются как в нормальных, так и в стрессовых условиях. Более того, было показано, что экспрессия сателлитных повторов характерна для филогенетически удалённых растений, включая лук (*Allium cepa*) и мох (*Physcomitrium patens*). В работе показаны отличительные особенности геномной и транскриптомной организации экспрессирующихся ретротранспозонов, включая более раннее время инсерции, специфический филогенетический состав, преимущественное кодирование транскриптами GAG белка и слабая связь экспрессии с мобильной активностью. Полученные сведения вносят важный вклад в изучение фундаментальной проблемы роли мобильных элементов в формировании транскриптома растений.

Используя нанопоровое секвенирование для полногеномного анализа внехромосомных кольцевых ДНК (вкДНК) для разных видов растений (рапс и арабидопсис), в работе впервые изучены состав и структура вкДНК и показано, что вкДНК LTR ретротранспозонов представляет пул гетерогенных по структуре молекул. Благодаря новому подходу, список известных мобильных элементов с доказанной мобильной активностью был существенно расширен новыми элементами генома тритикале

(ретротранспозон 'MIG'), подсолнечника (ретротранспозоны 'Gagarin' и 'SUNTY3'), рапса (семейство ретротранспозонов 'Antares') и арабидопсиса ('TR-GAG' элемент).

Значение полученных соискателем результатов для практики заключается в том, что в работе разработаны методы детекции новых инсерций мобильных элементов могут быть использованы также в биотехнологии растений для детекции Т-ДНК и ускорения процесса создания новых генотипов культурных растений, несущих новые функционально и фенотипически значимые инсерции. Кроме этого, практическая значимость работы определяется и открытием новых активных мобильных элементов и определению условий для их активации в геномах растений. Описанный подход может в дальнейшем быть использован для создания генотипов растений с новыми инсерциями и фенотипическими признаками для ускоренного получения новых форм растений. Разработанная в работе программа DRAWID существенно облегчает анализ кариотипа и представляет большой практический интерес для прикладной цитологии растений.

Оценка достоверности результатов исследований: обоснованность и достоверность полученных результатов и сделанных выводов подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, корректностью методологии исследований, соответствием методики и методов исследования поставленным задачам. Работа выполнена на высоком методическом уровне с применением разнообразных современных экспериментальных подходов, а также с использованием статистических методов обработки данных. Все сформулированные в диссертации положения, выводы, рекомендации полностью базируются на результатах исследований. Достоверность полученных результатов подтверждается их публикацией в рецензируемых научных изданиях с высоким рейтингом, а также материалами, представленными на российских и зарубежных конференциях.

Личный вклад автора в исследование заключается в получении результатов, изложенных в диссертации, либо непосредственно им, либо при осуществлении его ведущей роли в коллективных исследованиях, а именно планировании всех разделов экспериментальной работы, личном участии в них, анализе и обсуждении результатов, написании статей и заявок на изобретение, написании текста диссертации.

Диссертация полностью соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24 сентября 2013 г.

На заседании 19 сентября 2024 года диссертационный совет принял решение присудить Кирову Илье Владимировичу ученую степень доктора биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, из них докторов наук по специальности 1.5.7 – генетика – 12 человек, участвовавших в заседании, из 17 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 11, против – нет, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель

диссертационного совета

И.А. Захаров-Гезехус

Ученый секретарь

диссертационного совета

И.И. Горячева

«19» сентября 2024 года

