

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.016.01  
(Д 006.027.01), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ» (МИНИСТЕРСТВО  
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ)  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 11.12.2025 г. протокол № 10  
О присуждении Шведовой Анастасии Николаевне, гражданке Российской  
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Водное растение *Wolffia arrhiza* в качестве продуцента  
терапевтических рекомбинантных белков» по специальности 1.5.6 –  
Биотехнология принята к защите 07.10.2025 г., протокол № 9,  
диссертационным советом 24.1.016.01 (Д 006.027.01) на базе Федерального  
государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский  
научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»,  
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, 127550,  
г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42, приказ Минобрнауки Российской  
Федерации № 714/нк от 02.11.2012.

Соискатель Шведова Анастасия Николаевна, гражданка Российской  
Федерации, 15.06.1992 года рождения, в 2014 г. окончила с отличием  
специалитет Федерального государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего профессионального образования «Российский  
государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» по  
специальности 110204.65 «Селекция и генетика сельскохозяйственных  
культур».

С 2013 г. по настоящее время работает младшим научным сотрудником  
в лаборатории геномной инженерии растений Федерального государственного

бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии».

Диссертация выполнена в лаборатории генной инженерии растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии».

**Научный руководитель** – кандидат биологических наук Хватков Павел Алексеевич, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН», лаборатория биоинженерии растений, заведующий лабораторией.

**Официальные оппоненты:**

1. Савченко Татьяна Викторовна, доктор биологических наук, доцент, Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», лаборатория фотосинтетического окисления воды, ведущий научный сотрудник.

2. Додуева Ирина Евгеньевна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», биологический факультет, кафедра генетики и биотехнологии, доцент.

Выбор официальных оппонентов определялся их большим опытом в области биотехнологии растений, генной инженерии, биохимии растительных белков и метаболитов, обладающих терапевтическими свойствами, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы. Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию. Высказаны замечания и комментарии. Замечания носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в

диссертации результатов. Ответы на все замечания представлены в стенограмме заседания.

**Ведущая организация** Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», г. Москва, в своем положительном отзыве, утвержденном заместителем директора по научной работе, доктором биологических наук, профессором Равиным Николаем Викторовичем и составленном доктором биологических наук Мардановой Евгенией Сергеевной ведущим научным сотрудником лаборатории Систем молекулярного клонирования, указала, что диссертационная работа Шведовой Анастасии Николаевны представляет собой законченную научно-квалификационную исследовательскую работу, которая по своей актуальности, методическому решению поставленных задач, большому объёму выполненной работы, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней» (постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор А.Н. Шведова заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология. Отзыв содержит замечания дискуссионного характера. Ответ на отзыв присутствует в стенограмме заседания. Выбор ведущей организации обоснован высоким уровнем проводимых в ней исследований в области биотехнологии культуры растений, культивированию клеток, тканей, органов растений *in vitro*, разработке рекомбинантных вакцин на основе биотехнологических подходов, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Соискателем опубликовано 12 работ, из которых 3 статьи в журналах, входящих в перечень научных изданий рекомендованных ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных, 9 тезисов докладов международных и российских конференций. Наиболее значительными являются следующие публикации:

1. a) Shvedova, A.N., Optimization of Factors Affecting the Efficiency of Agrobacterium-Mediated Transformation of *Wolffia arrhiza* / A.N. Shvedova, P.A. Khvatkov, & S.V. Dolgov, // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2023. – V.59. – № 9. – P.1177–1182.

б) Шведова, А.Н. Оптимизация факторов, влияющих на эффективность агробактериальной трансформации *Wolffia arrhiza* / А.Н. Шведова, П.А. Хватков, С.В. Долгов // Биотехнология. – 2022. – Т.38. – №6. – С.40–46.

2. Khvatkov P., *Wolffia arrhiza* as a promising producer of recombinant hirudin / P. Khvatkov, A. Firsov, A. Shvedova, O. Kozlov, M. Chernobrovkina, A. Pushin, L. Shaloiko, S. Dolgov // 3 Biotech. – 2021. – V.11. – № 5. – P.209.

3. Khvatkov P., Development of *Wolffia arrhiza* as a producer for recombinant human granulocyte colony-stimulating factor / P.Khvatkov, A.Firsov, A. Shvedova, L.Shaloiko, O.Kozlov, M.Chernobrovkina, A.Pushin, I.Tarasenko, I.Chaban, S. Dolgov // Frontiers in Chemistry. – 2018. – V.6. – № Jul. – P.304.

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени в работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствованных материалов или отдельных результатов без указания источника установлено не было.

На автореферат диссертации поступило 7 отзывов. Все отзывы положительные. Отзывы прислали:

1) Архипов Андрей Владимирович, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории цифрового фенотипирования для селекции растений, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии». Отзыв положительный, без замечаний.

2) Долгова Анна Сергеевна, к.б.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией молекулярной генетики патогенных микроорганизмов, отдел Эпидемиологии, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Отзыв положительный, без замечаний.

3) Кладченко Екатерина Сергеевна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии гидробионтов, ФГБУН

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН». Отзыв положительный, без замечаний.

4) Ровнягина Наталия Романовна, младший научный сотрудник лаборатории клинической биофотоники, Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова. Отзыв положительный. В отзыве есть замечания, не снижающие положительной оценки работы: «-Приведенное в автореферате описание применения терапевтических белков ГКСФ и гирудина могло бы быть расширено, что могло бы дополнительно подчеркнуть актуальность и значимость выполняемой работы. - На рисунке 4 автор указывает концентрации инокулюма в оптических единицах при длине волны 600 нм ( $OD_{600}$ ), имея в виду оптическую плотность на длине волны 600 нм, предположительно измеренную в относительных единицах. Стоит уточнить корректное использование наименования единиц измерения. - На странице 15 автор по результатам ПЦР-анализа трансгенных линий вольфии демонстрирует гигромицин-устойчивые линии, содержащих полноразмерную вставку тДНК, а 1 линию, содержащую только последовательность устойчивости к гигромицину (рис. 7) Тем не менее в тексте автореферата не обсуждается подробно, может ли результат ПЦР-теста, полученный для 1 линии быть ложноположительным, что могло бы раскрыть значение полученных результатов более полно. - На странице 16 автореферата автор указывает значения уровня накопления гирудина, полученные в результате ИФА для линий Wh-09, Wh-15 и Wh-19. Автор также указывает, что различия в накоплении гирудина в данных линиях статистически не существенны. Краткое описание статистического анализа, устанавливающего наличие существенных отличий между различными группами данных, а также указание значения  $p$  (англ.  $p$ -value) могло бы усилить формулировку данного высказывания».

5) Румянцев Сергей Дмитриевич, к.б.н., научный сотрудник лаборатории геномики растений, ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН. Отзыв положительный. В отзыве имеются

замечания уточняющего и рекомендательного характера: 1. На странице 3 автореферата не понятно какие именно аминокислотные последовательности гирудина и ГКСФ были использованы. Даже у близкородственных пиявок аминокислотный состав гирудина может сильно меняться. Или это были синтетические аналоги? 2. Известно, что ГКСФ и гирудин культивируются в промышленных масштабах в дрожжевых культурах (К примеру, ГКСФ производится фирмой Bayer HealthCare Pharmaceuticals под торговой маркой Leukine; а синтетический аналог гирудина под маркой Thrombexx фирмой Extrauma). Есть ли преимущества синтеза, а также экономические преимущества использования данных пептидов в растениях по сравнению с дрожжами, ведь дрожжевые культуры не требуют дорогих сред, источника света и размножаются куда активнее растений? 3. Стр. 8. Значения pH среды играют важную роль для совместной культивации растений и агробактерий. Так было доказано, что эффективность трансформации максимальна для *Gossypium hirsutum* при pH около 5,8 (Indian J.Plant Physiol., Vol. 16, No. 3&4, (N.S.) pp. 303-308), а для *Arabidopsis thaliana* - 5,5 (10.1038/s41598-018-34949-9). По тексту автореферата не понятно какая pH была у питательных сред. Учитывалась ли pH среды для совместной культивации? 4. Стр. 8. Так же важную роль в увеличении эффективности трансформации играет ацетосерингон. Применялось ли данное соединение? 5. Стр. 14. При постановке ПЦР какая плазида была использована? Или использовали смесь плазмид pCamHIR и pCamGCSF? На электрофореграмме, указывающей на наличие целевого гена, плазида имеет оба ампликона. Можно ли объяснить наличие неспецифичных ампликонов на рисунке с *virC* неправильно подобранной температурой отжига? 6. В работе нет списка сокращений, это затрудняет восприятие информации. Некоторые сокращения расшифрованы в тексте автореферата, некоторые не расшифрованы (Например, регуляторы роста 2,4-D и BA).

б) Цаценко Людмила Владимировна, д.б.н., профессор кафедры

генетики, селекции и семеноводства, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина». Отзыв положительный, без замечаний.

7) Эльконин Лев Александрович, д.б.н., главный научный сотрудник отдела биотехнологии, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока». Отзыв положительный, без замечаний.

В ходе защиты соискатель дал развернутые ответы на поставленные вопросы.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана концепция использования вольфии бескорневой (*Wolffia arrhiza*) в качестве биотехнологической платформы для производства рекомбинантных терапевтических белков. Предложена гипотеза, о том, что вольфия бескорневая обладает биологическими и физиологическими характеристиками (высокая скорость размножения, высокое содержание белка и др.), позволяющими использовать её в качестве эффективной растительной экспрессионной платформы для наработки терапевтических рекомбинантных белков (в частности, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека — ГКСФ и гирудина), при условии успешной оптимизации методов транзientной и стабильной агробактериальной трансформации.**

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана возможность получения растений вольфии бескорневой эффективно экспрессирующих гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ), а также экспрессирующие рекомбинантный гирудин.**

**Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы:** клонального микроразмножения, агробактериальной трансформации растений, ПЦР, гистохимический анализ активности гена *uidA*, методы анализа в агарозном геле, проведение Саузерн-блот анализа, Вестерн-блот анализа, а также проведение иммуноферментного анализа. **Изложены факты, свидетельствующие об оценке технологического потенциала**

использования полученных линий вольфии для трансфера белка в среду для культивирования. **Раскрыты** гипотезы относительно перспективности вольфии бескорневой как экспрессионной платформой для наработки рекомбинантных белков. **Изучено** влияние двух регуляторов роста (2,4-Д и 6-бензиламинопурина) на эффективность стабильной трансформации вольфии. **Проведена модернизация** метода агробактериальной трансформации, позволившая повысить эффективность стабильной трансформации в два раза по сравнению с предыдущими исследованиями.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем,** что усовершенствование протокола агробактериальной трансформации вольфии бескорневой позволило получить линии вольфии экспрессирующие два терапевтических белка. **Определена** оптимальная плотность популяции вольфии в биореакторе для трансфера и экстракции рекомбинантного ГКСФ из культивационной среды. **Представлена** оценка ряски вида *Wolffia arrhiza* как претендента на высокоэффективную растительную экспрессионную систему для наработки рекомбинантных белков. **Созданы** впервые в мире трансгенные растения вольфии бескорневой содержащие и экспрессирующие гены терапевтических белков (ГКСФ и гирудина).

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:** для **экспериментальных работ** результаты получены посредством анализа большого объема экспериментального материала на сертифицированном оборудовании и высоко воспроизводимы; **теория** работы построена на фундаменте опубликованных экспериментальных данных по растениям семейства *Lemnaceae*, к которому относится объект исследования – *Wolffia arrhiza*; **идея базируется** на обобщении отечественных и зарубежных исследований, посвященных созданию стабильных трансгенных линий растений для производства рекомбинантных белков; **использованы** сравнение данных автора с данными, полученными ранее в работах других авторов, занимающихся изучением представителей семейства *Lemnaceae*;

**использованы** современные, апробированные методики молекулярно-генетического анализа и биотехнологии растений; **установлено**, что полученные результаты (оптимизация трансформации, создание и анализ трансгенных линий *W. arrhiza*) в значительной степени дополняют и расширяют существующие представления о потенциале быстрорастущих водных растений в качестве новой, высокоэффективной биотехнологической платформы.

**Личный вклад соискателя состоит** в непосредственном участии во всех этапах работы, включая применение методов и протоколов, способствующих получению представленных данных, в апробации результатов исследования. Автор самостоятельно анализировал полученные результаты, делал выводы и обобщения, подготавливал публикации.

Диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой изложены результаты исследования, направленного на разработку и экспериментальное обоснование новой биотехнологической платформы для производства терапевтических рекомбинантных белков на основе водного растения вольфии бескорневой.

**Научная значимость работы** заключается в том, что получены трансгенные растения вольфии бескорневой содержащие и экспрессирующие гены терапевтических белков (ГКСФ и гирудина), также проведена оценка рьяски как претендента на высокоэффективную экспрессионную систему.

**Впервые:** получены трансгенные растения вольфии бескорневой содержащие рекомбинантный ГКСФ и гирудин. Установлена оптимальная плотность популяции при культивировании вольфии в биореакторе. Оптимизированы условия агробактериальной трансформации вольфии бескорневой, что позволило повысить эффективность трансформации вольфии в 2 раза.

**Результаты работы могут быть использованы** для дальнейших исследований вольфии бескорневой как платформы для промышленного производства терапевтических белков, создания «съедобных вакцин»,

пероральных биофармацевтических препаратов на растительной основе, расширения ассортимента растительных экспрессионных систем в биофарминге.

Соискатель Шведова А.Н. ответила на заданные ей в ходе заседания вопросы и привела аргументированные ответы.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что в диссертации:

- соблюдены критерии, установленные Положением о присуждении ученых степеней, утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;

- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

На заседании 11 декабря 2025 г. диссертационный совет принял решение присудить Шведовой Анастасии Николаевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 8 человек, из них 7 докторов наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, участвовавших в заседании, из 8 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 6, против – 1, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель  
диссертационного совета  
24.1.016.01 (Д 006.027.01)



П.Н. Харченко

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
24.1.016.01 (Д 006.027.01)

М.В. Дудников

11.12.2025 года