

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.047.01**  
**НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО**  
**УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ СИБИРСКОГО ИНСТИТУТА ФИЗИОЛОГИИ И**  
**БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ**  
**АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ**  
**КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 17 декабря 2019 г. № 3

о присуждении **Тарасенко Татьяне Андреевне** (Российская Федерация) ученой степени кандидата биологических наук.

**Диссертация** «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК» по специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» принята к защите 9 октября 2019 г., протокол №2, диссертационным советом Д 003.047.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132, а/я 317), приказ о создании №105/нк от 11 апреля 2012 г.

**Соискатель** Тарасенко Татьяна Андреевна, 1993 года рождения, с 2019 года и по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

**Диссертация выполнена** в лаборатории генетической инженерии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

В 2015 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Иркутский государственный университет. В 2015 году Татьяна Андреевна поступила в очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН, которую окончила в 2019 году.

**Научный руководитель** – Кулинченко Милана Вячеславовна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, старший научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений.

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ФГБУН ИБФРМ РАН) в своем **положительном заключении**, подписанным Селивановым Николаем Юрьевичем, кандидатом биологических наук

(03.00.07 – микробиология), старшим научным сотрудником лаборатории иммунохимии, и Щеголевым Сергеем Юрьевичем, доктором химических наук (02.00.04 – физическая химия), профессором, заведующим лаборатории иммунохимии, отмечают, что диссертационная работа «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК» по актуальности темы, новизне полученных результатов, теоретической и практической значимости результатов отвечает всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, а ее автор, Тарасенко Татьяна Андреевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений. Отзыв заслушан и утверждён на заседании Лаборатории иммунохимии ИБФРМ РАН, протокол № 66 от 26 ноября 2019 года.

#### **Замечания в отзыве ведущей организации.**

Желательно было бы использовать сопоставление молярных концентраций фрагментов при оценке эффективности импорта. Оформительские замечания. Пожелание: исследовать его эффективность импорта в зависимости от времени экспозиции митохондрий с ДНК.

#### **Официальные оппоненты:**

1. Щербаков Дмитрий Юрьевич, доктор биологических наук (03.02.07 – генетика), профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН ЛИИ СО РАН), заведующий лабораторией геносистематики,

2. Мазунин Илья Олегович, кандидат биологических наук (03.01.07 – молекулярная генетика), Сколковский институт науки и технологий (Сколтех), старший научный сотрудник Центра наук о жизни

**дали положительные отзывы о диссертации.**

#### **Замечания в отзыве официального оппонента д.б.н. Д.Ю. Щербакова.**

Неудачная формулировка первого защищаемого положения; желательно использовать какой-либо биохимический тест для контроля интактности митохондрий; использовать простые кинетические уравнения для создания графиков кинетики.

#### **Замечания в отзыве официального оппонента к.б.н. И.О. Мазунина.**

Следовало показать данные о стабильности копий мтДНК в различных модельных системах.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** их широкой известностью своими достижениями в данной отрасли науки по специальности защищаемой диссертации. В ведущей организации ФГБУН ИБФРМ РАН работают специалисты, выполняющие фундаментальные научные исследования в области физиологии и биохимии растений, генной экспрессии, транспорта нуклеиновых кислот через биологические мембраны, молекулярной и

общей генетики растений. Официальный оппонент д.б.н. Д.Ю. Щербаков является ведущим специалистом в области структуры и экспрессии митохондриальных и ядерных генов эукариот, оппонент к.б.н. И.О. Мазунин является авторитетным исследователем в области импорта биологических макромолекул в митохондрии человека.

**На автореферат поступили отзывы (все отзывы положительные):**

1. к.б.н. Н.В. Кулакова, ФГБУН ЛИН СО РАН, г. Иркутск; 2. к.б.н. М.А. Хаснатинов, НИЦ ПЗСРЧ СО РАН, г. Иркутск (не указывается целостность мембран митохондрий конкретных фракций; отсутствует список сокращений); 3. д.б.н., проф. П.А. Каменский, ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва (в выводах не имеют права находиться обороты вроде «полученный результат свидетельствует...», «мы предполагаем, что...», «...скорее всего...» и т.п.); 4. д.б.н. Е.Ю. Марков, ФКУЗ НИПЧИ, г. Иркутск (отсутствует список сокращений; словосочетание «двойная мембрана» применительно к двумембранной оболочке митохондрий неудачное.); 5. д.б.н. Б.Р. Кулуев, ФГБУН ИБГ УФИЦ РАН, г. Уфа; 6. д.б.н. Л.А. Эльконин, ФГБНУ НИИСХ Юго-Востока, г. Саратов; 7. к.б.н. И.В. Клименков, ФГБУН ЛИН СО РАН, г. Иркутск; 8. к.б.н., доц. А.А. Приставка, ФГБОУ ВО БПФ ИГУ, г. Иркутск (что имелось в виду под «среднеквадратичной ошибкой»? С помощью какого критерия оценивалась достоверность различий между выборками на диаграммах?); 9. д.б.н., проф. Д.Б. Зоров, НИИФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ, г. Москва; 10. к.б.н., доц. Н.П. Судаков, ФГБУН ИНЦХТ, г. Иркутск; 11. д.б.н., проф. Е.В. Дейнеко, ФГБУН ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск.

Соискатель имеет 13 научных работ, из них **2 статьи в рецензируемых журналах из Перечня ВАК РФ (входящих в базу Web of Science).**

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Konstantinov Y.M. DNA import into mitochondria / Y.M. Konstantinov, A. Dietrich, F. Weber-Lotfi, N. Ibrahim, E.S. Klimenko, V.I. Tarasenko, T.A. Bolotova and M.V. Koulintchenko // *Biochemistry (Moscow)*. – 2016. – V. 81, 1044-1056. doi: 10.1134/S0006297916100035.
2. Tarasenko T.A. DNA import into plant mitochondria: complex approach for in organello and in vivo studies / T.A. Tarasenko, V.I. Tarasenko, M.V. Koulintchenko, E.S. Klimenko and Y.M Konstantinov // *Biochemistry (Moscow)*. – 2019. – V. 84(7). – P. 817-828. doi: 10.1134/S0006297919070113.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработаны** положения, вносящие значительный вклад в современное представление о сущности феномена транспорта ДНК в митохондрии растений;

**предложена** оригинальная гипотеза о связи импорта ДНК с содержанием изоформы порина VDAC3;

**доказана** более высокая эффективность импорта ДНК *in vivo* по сравнению с импортом, проводимым в системе изолированных органелл.

**Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что:**

**Доказано** существование двух субпопуляций митохондрий с разной способностью к импорту ДНК, выделенных из листьев арабидопсиса, корнеплодов репы и проростков кукурузы.

**Применительно к проблематике диссертации с получением обладающих новизной результатов использован** комплекс современных подходов и методов исследования, включающих электрофоретические, электронно-микроскопические, полярографические методы анализа, методы экстракции биополимеров из клеток, выделения органелл, получения и трансформации протопластов, количественной и обратно-транскриптазной ПЦР и др;

**изложены** принципиально новые данные о роли факторов, белковой и небелковой природы, оказывающих влияние на организацию транспортной системы растительных митохондрий, в импорте ДНК разной длины. В представленной работе систем *in organello* и *in vivo* **впервые** исследована роль в импорте ДНК ряда белков-переносчиков митохондриальной мембраны *A. thaliana*. **Впервые** показано, что исследованная в работе кинетическая зависимость импорта от количества ДНК-субстрата имеет различный характер для ДНК разной длины. **Впервые** продемонстрировано что митохондрии, обладающие менее сформированной системой внутренних мембран, проявляют более выраженную способность к импорту ДНК. Представленный в работе новый подход к изучению импорта ДНК с использованием системы *in vivo* позволил **впервые** продемонстрировать, что ДНК эффективно транслоцируется из цитоплазмы в митохондриальный матрикс в протопластах арабидопсиса, а эффективность импорта ДНК *in vivo* значительно выше импорта ДНК в системе *in organello*;

**раскрыто** существование новых факторов, способствующих эффективной транслокации ДНК в митохондриальный матрикс;

**изучено** участие ряда белков митохондриальной мембраны в процессах транспорта молекул ДНК, влияние особенностей структурной организации внутренней мембраны разных типов митохондрий на эффективность импорта ДНК и кинетическая зависимость процесса импорта ДНК от длины импортируемой молекулы;

**проведена модернизация** существующих представлений о феномене импорта ДНК в растительные митохондрии.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**определены** новые движущие силы переноса ДНК в растительные митохондрии, знание которых может быть использовано в качестве теоретической основы для разработки эффективных стратегий и подходов адресной доставки ДНК в митохондрии растений *in vivo*;

**созданы** предпосылки для более глубокого понимания физиологических процессов в растительном организме, способствующего созданию методами генетики и

селекции новых растительных форм с улучшенными хозяйственно ценными признаками;

**представлены** данные, которые могут быть использованы в работе научно-исследовательских учреждений биологического и образовательного профиля, а также при чтении лекций по генетике и биотехнологии растений для студентов биологических факультетов университетов и сельскохозяйственных ВУЗов.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила следующее:**

**для экспериментальных работ** результаты получены с применением оборудования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН с использованием стандартных и апробированных методик. Заключение о достоверности результатов основано на статистической обработке экспериментальных данных;

**теория** основана на имеющихся в литературе данных о транспорте нуклеиновых кислот в митохондрии растений;

**использовано** сравнение авторских данных и данных, полученных другими исследователями по рассматриваемой тематике;

**установлено**, что полученные результаты и сформулированные выводы расширяют понимание сущности явления импорта ДНК, и не противоречат результатам, представленным в независимых источниках по данной тематике;

**использованы** современные методики сбора и обработки информации с использованием электронных ресурсов PubMed, Web of Science, eLIBRARY и др.

**Личный вклад соискателя состоит:** в планировании и проведении экспериментов, в обработке и интерпретации полученных результатов, в написании статей, опубликованных по результатам работы, а также в апробации результатов исследования в ходе выступления на конференциях различного уровня.

На заседании 17 декабря 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Тарасенко Татьяне Андреевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 17 докторов наук, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 18, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель

диссертационного совета Д 003.047.01

д.б.н., профессор

Войников Виктор Кириллович

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 003.047.01

кандидат биологических наук

Акимова Галина Петровна



17 декабря 2019 года