

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Тарасенко Татьяны Андреевны «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.01.05 – физиология и биохимия растений

Актуальность проблемы. Диссертация Т.А. Тарасенко «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК» посвящена решению задач, связанных с импортом нуклеиновых кислот в митохондрии высших растений. Целью диссертационного исследования является изучение роли факторов белковой и небелковой природы, влияющих в разной степени на эффективность импорта молекул ДНК в матрикс растительных митохондрий.

Проблема эффективного импорта макромолекул в митохондрии является одной из ключевых в разработке протоколов трансформации митохондрий, как растений, так и животных. Несмотря на то, что система белкового импорта изучена значительно лучше, нежели импорт нуклеиновых кислот, в механизме импорта белков остается много непонятного. В частности, до сих пор не реализован полный перенос белок-кодирующих митохондриальных генов в ядро в модельных клеточных системах, вероятно, в силу высокой гидрофобности таких белков. Импорт нуклеиновых кислот, очевидно, реализуется посредством других механизмов, причем, механизмы, скорее всего, разные для ДНК и РНК. Процесс понимания механизмов импорта упомянутых макромолекул (по степени понимания) я бы расположил следующим образом: белки, ДНК, РНК.

В представленном исследовании соискатель изучает процессы естественного импорта молекул ДНК разной длины в митохондрии как в системе *in vitro*, так и *in vivo*. Полученные данные необходимы для понимания механизмов такого импорта, чтобы в дальнейшем успешно манипулировать вышеуказанными системами для повышения его эффективности.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверность и новизна. План работ, представленный соискателем, в целом отвечает поставленным задачам, и идейно продолжает огромную работу, проводимую в лаборатории профессора Юрия Михайловича Константинова. Обоснованность и достоверность полученных результатов обусловлены применением в исследовании широкого спектра методов, подтверждающих и дополняющих друг друга. Кроме того, результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на многочисленных конференциях и научных семинарах. Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам. Их формулировка выглядит весьма обоснованной. Анализ научной литературы подтвердил, что никто ранее не публиковал эксперименты по изучению эффективности импорта ДНК в митохондрии растений, дефектных по генам *VDAC* и другим белкам биогенеза митохондрий, а также в различные субпопуляции митохондрий.

Соответствие работы требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертация Т.А. Тарасенко является законченным исследованием, направленным на решение актуальной задачи. Цель и задачи четко сформулированы, а выводы соответствуют задачам. Работа прошла апробацию на конференциях. По тематике исследования опубликовано 13 научных работ, из которых 2 статьи в рецензируемых журналах из Перечня ВАК РФ. Таким образом, работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Достоинства и недостатки по оформлению и содержанию работы. Как уже было отмечено, работа представляет собой целостное актуальное законченное исследование с обоснованными выводами. Как человеку, работающему с митохондриями человека, мне было крайне интересно читать литературный обзор по вопросам митохондриальной биологии растений. Методы, представленные в работе, весьма разнообразны и адекватно подобраны. Соискатель проделал огромную работу за время выполнения диссертационного исследования. Представленные методы вполне подходят для обозначенных задач. Немаловажную роль сыграли и многочисленные наработки коллектива лаборатории по

данной проблематике как в теоретических вопросах, так и в конкретных практических нюансах используемых методов.

Одним из достоинств работы стала разработка способа анализа импорта ДНК в изолированные митохондрии растений путем использования флуоресцентно меченых праймеров для амплификации ДНК. Также всегда интересна параллель между экспериментами *in vitro* и *in vivo*, что и было успешно продемонстрировано в ходе работы.

Из недостатков оформления текста стоит отметить мелкие опечатки и повторяющиеся предложения в пределах одного абзаца (страница 123, когда идет речь о различных субпопуляциях митохондрий, и страница 128, где говорится об инактивации различных изоформ порина).

Отдельно хотел бы высказать сомнение относительно адекватности нормирования на митохондриальный ген и использование именно этого отношения в качестве эталона импорта. Одно дело, когда используют ядерный однокопийный ген и нормируют данные на него. Другое дело ДНК митохондрий, количество копий которой постоянно меняется в процессе культивирования клеток, в процессе манипуляции над клетками, а также при разных жизненных стадиях организма. В работе не представлены данные о стабильности копий mtДНК в различных модельных системах, которые использует автор диссертации. Например, когда изучается роль нокаутов различных вариантов VDAC, а также TSPO, MIC60, OM47, DRP3A и DRP3B, нет подтверждения, что это не приводит к уменьшению количества копий mtДНК. Если следовать подходу, который использует соискатель, то количество копий mtДНК в изучаемых нокаутах уменьшается относительно Col-0 и значения импорта экзогенной ДНК будут завышены. Желательно обосновать выбранную схему обсчёта данных. Я понимаю, что сложно показать истинное значение импортируемой ДНК, и видимо, нужно сравнивать несколько методов, чтобы получить более-менее адекватные значения.

Мнение о научной работе соискателя в целом. В целом работа производит прекрасное впечатление, а автор исследования является талантливой и самостоятельной молодой исследовательницей. Диссертационная работа соот-

ветствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Содержание диссертации соответствует специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений. Таким образом, Татьяна Андреевна Тарасенко заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент
старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук
Центра наук о жизни Сколковского
института науки и технологии
121205, Москва, ул. Нобеля, дом 3
Тел. +79527999279
Электронная почта: I.Mazunin@skoltech.ru



И.О. Мазунин
«25» ноября 2019 г.

Подпись И.О. Мазунина удостоверяю

Руководитель отдела кадрового администрирования
Сколковского института науки и технологий



О.С. Гук
«25» ноября 2019 г.

«25» ноября 2019 г.