Отзыв

на автореферат диссертации «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК» Тарасенко Татьяны Андреевны на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений

Представленная работа посвящена проблеме исследования факторов, влияющих на организацию транспорта ДНК в растительных митохондриях. Горизонтальный перенос генов играет важную роль в эволюции растений и может оказывать значительное влияние на структуру и функционирование митохондриальных геномов. Изучение механизмов переноса ДНК в митохондрии является на сегодняшний день актуальным вопросом, для решения которого автором работы использованы современные методы анализа транспортных белков митохондрий и проведена статистическая обработка результатов.

Автором проанализирован значительный объем данных, полученных в ходе экспериментальных работ с применением различных объектов: *Arabidopsis thaliana, Solanum tuberosum, Zea mays, Brassica rapa*. В работе предложен новый подход к изучению импорта ДНК с использованием системы *in vivo* и впервые установлен более эффективный перенос ДНК в митохондрии по сравнению с системой *in organello*, показана зависимость кинетики импорта в митохондрии от размера молекул ДНК. Полученные автором результаты исследований вносят вклад в решение фундаментальной проблемы транспорта ДНК в митохондрии. В практических целях результаты исследования могут быть использованы для решения методологически схожих задач в биотехнологии и медицине. Основные задачи исследования выполнены автором в полной мере. Приведенные в автореферате результаты исследований статистически достоверны, свидетельствуют о высоком уровне проведенных исследований и обоснованности выводов. Все это делает работу диссертантки логически завершенной. Результаты исследований достаточно полно отражены в научных публикациях.

Автореферат работы написан хорошим литературным языком, логически структурирован, имеющийся иллюстративный материал дополняет и облегчает восприятие текста работы. Изложение работы в автореферате не дает оснований для замечаний. Учитывая вышеизложенное, считаю, что диссертационная работа Т.А. Тарасенко имеет весомую научную и практическую значимость, соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений.

к.б.н. (03.00.23 – «Биотехнология») с.н.с. лаборатории геносистематики федерального бюджетного научного учреждения «Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук»

Кулакова Нина Викторовна

Почтовый адрес: ул. Улан-Баторская, 3. Иркутск, Иркутская область, 664033
Email: kulakova@lin.irk.ru
Телефон: +79021773251

Подпись Н.В. Кулаковой заверяю
ученый секретарь Н.В. Максимова
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт Сибирского отделения
Российской академии наук (ЛИН СО РАН)
«25» ноября 2019 г.

ОТЗЫВ

на автореферат Тарасенко Татьяны Андреевны по теме диссертации «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Диссертационное исследование Т. А. Тарасенко посвящено изучению роли факторов белковой и небелковой природы, оказывающих влияние на организацию транспортной системы растительных митохондрий, в транспорте ДНК разной длины. Автореферат составлен по общепринятой схеме. Во вводной части автор убедительно обосновывает актуальность проведенного исследования, внятно определяет цель и задачи исследования, приводит необходимую информацию о научной новизне, методологии, теоретической и практической значимости работы, а также публикует положения, выносимые на защиту. В разделе «Содержание работы» приводятся данные об использованных материалах и методах, а также главные результаты работы. Раздел «Заключение» содержит описание дизайна исследования, обобщение результатов исследования и их обсуждение. Автореферат содержит две таблицы и проиллюстрирован 14 рисунками.

Работа выполнена с использованием митохондрий четырех растений – арабидопсиса, репы, кукурузы и картофеля. Объем экспериментальных исследований и использованные методы соответствует поставленным задачам. Проведен статистический анализ полученных результатов. При изучении автореферата возникает два замечания:

1) В таблице 2 данные по интактности внешней мембраны приведены в виде совокупного интервала двух выборок без оценки различий между митохондриями верхней и нижней фракций. При этом данные по дыхательному контролю и данные по импорту ДНК приведены сравнительно для конкретных фракций с оценкой статистической значимости различий. В тексте автореферата также не показана целостность мембран конкретных фракций – только общий на две фракции интервал значений. На мой взгляд, такое представление результатов серьезно затрудняет оценку роли целостности внешней мембраны митохондрий в повышении уровня импорта ДНК.

2) При оформлении автореферата автор допускает небрежность в приведении аббревиатур и латинских названий растений, что осложняет восприятие текста. Так, например, аббревиатура "VDAC" впервые встречается на стр. 3, строка 14. Однако расшифровки этой аббревиатуры не приводится, причем списка сокращений в

автореферате также нет. Хотя бы какое-то объяснение этой аббревиатуры появляется только на стр. 4 в задаче 3. Латинское название основного растительного объекта исследования впервые приведено на стр.4 в задаче 1 в сокращенной форме «*A. thaliana*», полное название «*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., 1842» в автореферате мне обнаружить не удалось, а частичное в виде «*Arabidopsis thaliana*» появляется только на стр. 5 в разделе «Методология». Далее по тексту вперемешку используются формы «*A. thaliana*», «*Arabidopsis thaliana*» и «*Arabidopsis thaliana* (L.)».

В целом, диссертация Татьяны Андреевны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой изложены новые научные результаты. Работа выполнена на современном и высоком методическом уровне, результаты отличаются научной достоверностью, выводы сформулированы корректно и соответствуют полученным результатам. Работа апробирована, по меньшей мере, на 6 специализированных международных и всероссийских научных конференциях. По теме диссертации опубликованы две статьи в журнале, включенном в список ВАК и реферируемом в базе данных Web of Science.

Таким образом, диссертация «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», **соответствует** требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Тарасенко Татьяна Андреевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

27.11.2019 г.

в.н.с. лаборатории трансмиссивных инфекций
ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья
семьи и репродукции человека»,
кандидат биологических наук (03.00.07- микробиология)_____ М.А. Хаснатинов

e-mail: khasnatinov@yandex.ru
Тел./факс.: 8(395-2) 33-39-71
664025, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3.

Подпись М.А. Хаснатинова
удостоверяю
Начальник отдела
кадров Макарова О.Н.

ОТДЕЛ КАДРОВ

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации **ТАРАСЕНКО Татьяны Андреевны** «ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ МИТОХОНДРИЙ, УЧАСТВУЮЩИХ В ИМПОРТЕ ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений

Диссертационная работа Е Т.А.Тарасенко посвящена описанию транспортной системы растительных митохондрий, осуществляющей импорт ДНК разной длины в органеллы. Импорт ДНК в изолированные митохондрии – феномен, описанный еще в конце прошлого века, однако в данной работе впервые была предпринята попытка демонстрации возможности протекания этого процесса в интактных растительных клетках. Биологическая значимость импорта ДНК в митохондрии неочевидна, но это ни в малейшей степени не снижает актуальности и значимости работы, поскольку дальнейшее развитие данной тематики может привести к появлению систем трансформации митохондрий высших растений с экспрессией чужеродных генов внутри органелл.

Экспериментальные подходы, использованные в работе, сочетают разнообразные методы физиологии, биохимии и молекулярной биологии растений. В ходе выполнения работы автором разработан высокочувствительный метод определения активности импорта ДНК в изолированные митохондрии с помощью количественной ПЦР, получены оригинальные экспериментальные данные, на основании которых было выявлено, что в транспорт ДНК малой и средней длины вовлечены ДНК-проводящие мембранные каналы, образуемые белками-переносчиками. Кроме того, установлена важная роль некоторых мембранных белков митохондрий в импорте ДНК. Таким образом, автором убедительно продемонстрировано существование множественности путей переноса ДНК разной длины в митохондрии растений, что лично мне представляется наиболее значимым результатом работы.

У меня имеется замечание к выводам. Строго говоря, в том виде, в котором они присутствуют в автореферате, это не выводы, а часть обсуждения результатов. Выводы должны формулироваться строго в экспериментальных терминах, и в них не имеют права находиться обороты вроде «полученный результат свидетельствует…», «мы предполагаем, что…», «…скорее всего…» и т.п.

Тем не менее, считаю, что диссертационная работа Т.А.Тарасенко по актуальности, методическому уровню, научной и практической значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым ВАК Минобразования и науки РФ к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений, а ее автор Тарасенко Татьяна Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений.

Профессор биологического факультета федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», доктор биологических наук (03.01.03)

Каменский Петр Андреевич
119234, Москва, Ленинские горы, дом 1 стр.12
Тел. +7 495 9395485
E.mail: peter@protein.bio.msu.ru

ПОДПИСЬ РУКИ Каменского П.А.
ЗАВЕРЯЮ
Документовед биологического факультета МГУ

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации ТАРАСЕНКО Татьяны Андреевны «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Диссертационная работа Тарасенко Татьяны Андреевны посвящена исследованию недостаточно изученного феномена импорта ДНК в растительные митохондрии. В работе представлены данные о роли факторов, белковой и небелковой природы, оказывающих влияние на организацию транспортной системы растительных митохондрий, в импорте ДНК разной длины. Полученные данные важны для возможной регуляции активности митохондрий и энергентического статуса растения. Более того, знание факторов, влияющих на формирование транспортной ситемы митохондрий, может помочь в создании модельной системы для трансформации митохондриального генома – сложной и в настоящий момент нерешенной задачи. В связи с вышесказанным, актуальность диссертационной работы Тарасенко Татьяны Андреевны не вызывает сомнений.

Немаловажно отметить использование автором широкого и разнообразного методического арсенала для провдения экспериментов по теме своей диссертации. В соответствии с ним, весьма разнообразны представленные результаты работы. Установлена кинетическая зависимость процесса поглощения ДНК в зависимости от длины импортируемой молекулы. Доказано, что митохондриальная популяция арабидопсиса, корнеплодов репы и проростков кукурузы предсталяет собой смесь митохондрий разных типов, отличающихся по способности к импорту ДНК. Кроме того, изучена роль ряда белков наружной и внутренней мембран митохондрий в процессе импорта ДНК.

Важным достижением проделанной автором работы является представление нового подхода к изучению импорта ДНК в системе *in vivo*, т. е. в условиях осуществления импорта ДНК в митохондрии протопластов. Стоит отметить, что все более ранние работы по изучаемой проблеме проводились в системе изолированных митохондрий. Данный факт подчеркивает несомненный прорыв работы Татьяны Андреевны для исследований этого явления: результаты, полученные с использованием более удобной системы *in organello*, теперь могут быть подтверждены в экспериментах в системе *in vivo*. Полученные автором результаты представляют несомненный интерес для биохимиков, генетиков и молекулярных биологов.

В качестве замечаний, не умаляющих достоинства работы, следует указать отсутствие в автореферате списка сокращений или их расшифровки в тексте, а также использование не совсем подходящего, на мой взгляд, словосочетания «двойная мембрана» применительно к двумембранной оболочке митохондрий.

В целом, судя по автореферату, диссертация производит впечатление цельной, завершенной работы с очевидными перспективами дальнейшего развития. Выводы из работы обоснованы. Таким образом, данная диссертационная работа полностью отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам, а ее автор, Тарасенко Татьяна Андреевна, несомненно, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Заведующий биохимическим отделом
Федерального казенного учреждения
здравоохранения «Иркутский ордена Трудового
Красного Знамени научно-исследовательский
противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека
доктор биологических наук (03.02.03)
старший научный сотрудник (03.01.04) Марков Евгений Юрьевич

664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78
Тел.: (3952) 22-01-38
E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Подпись Е. Ю. Маркова заверяю:

Нач. отдела кадров и спецчасти института: Н. И. Шангареева

29 декабря 2019 г.

Отзыв на автореферат диссертации
Тарсасенко Татьяны Андреевны
«Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», представленного на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Митохондрии растений характеризуются высоким уровнем компетентности к экзогенной ДНК. Предполагается, что такой перенос ДНК осуществляется при помощи митохондриальных поринов VDAC, однако конкретные молекулярные механизмы импорта ДНК через мембраны митохондрий остаются малоизученными. Исходя из литературных источников можно предположить, что в обеспечение импорта ДНК в митохондрии могут быть вовлечены ряд белков, таких как предшественник β-субъединицы АТФ-синтазы, субъединица комплекса I, CuBP и другие. Однако роль этих и других факторов белковой и небелковой природы в обеспечении импорта ДНК в митохондрии остается неизвестной, поэтому представленное к защите диссертационное исследование представляется актуальной. Научная новизна заключается в том, что впервые была исследована роль ряда белков внешней митохондриальной мембраны в качестве переносчиков ДНК. Причем результаты были получены с использованием двух систем – *in organello* и *in vivo*, к тому же с привлечением инсерционных мутантов *Arabidopsis thaliana*. Данное направление исследований имеет также практическое значение, так как полученные результаты могут быть использованы в качестве теоретической основы для разработки эффективных стратегий и подходов адресной доставки ДНК в митохондрии *in vivo*. В целом работы по разработке методов генетической трансформации митохондрий имеют важное прикладное значение, так как они могут быть использованы для клонирования целевых генов в митохондриях. При выполнении исследования применялось большое число современных методов физико-химической биологии. Все поставленные в ходе работы задачи выполнены, по результатам исследований сформулированы обоснованные выводы. Результаты исследования опубликованы в рецензируемых научных журналах.

По актуальности темы, научному уровню, теоретической и практической значимости результатов диссертация отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а ее автор Тарсасенко Татьяна Андреевна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Зав. лаб. геномики растений
ИБГ УФИЦ РАН, д.б.н.
3.12.2019 г.

Кулуев Булат Разяпович
+79273563156, kuluev@bk.ru

Подпись Кулуева Б.Р. заверяю
ДЛЯ ДОКУМЕНТОВ
Ученый секретарь ИНСТИТУТА БИОХИМИИ И ГЕНЕТИКИ
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
Ф.Р. Гимаева

450054, г. Уфа, ул. Проспект Октября, 71. Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ИБГ УФИЦ РАН). Телефон: +7(347)2356088. Электронная почта: molgen@anrb.ru.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК» Тарасенко Татьяны Андреевны, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Разработка подходов для генетической модификации митохондриального генома относится к числу наиболее сложных и актуальных задач современной биологии растений. Митохондриальный геном участвует в генетическом контроле многих важных признаков и свойств растений, таких как цитоплазматическая мужская стерильность, устойчивость к патогенам и абиотическим стрессовым факторам внешней среды, влияет на проявление гетерозиса, метилирование и стабильность ядерного генома. Однако до сих пор не существует надежных методов введения чужеродной ДНК в митохондриальный геном растительной клетки. В этой связи, актуальность диссертационной работы Т.А. Тарасенко, посвященной исследованию факторов, влияющих на импорт ДНК митохондриями разных видов растений, не вызывает никаких сомнений.

Автором разработан метод изучения импорта ДНК в митохондрии растений в системе *in vivo* (в протопласты), способствующий понимаю молекулярных механизмов этого процесса. При этом диссертантом четко показано, что вводимая ДНК разных размеров (от 270 п.н. до 2.7 т.п.н.), локализуется в матриксе митохондрий. На основе использования гомозиготных мутантов с мутациями в генах *vdac1*, *vdac2*, *vdac3* и *vdac4*, кодирующих митохондриальные порины, показано усиление импорта ДНК в митохондрии арабидопсиса при отсутствии изоформ поринов VDAC1, VDAC2, VDAC4. Автором высказывается интересная гипотеза о связи импорта ДНК с содержанием порина VDAC3, поскольку уровень транскрипта гена *vdac3* у мутантов *vda1*, *vdac2* и *vdac4* с увеличенной способностью к импорту ДНК, был значительно повышен. Т.А. Тарасенко были получены интересные данные, указывающие на разный механизм импорта молекул ДНК небольшого размера (270 п.н.) и средней длины (2.7 т.п.н.), причем в последнем случае в зависимости от концентрации ДНК, по-видимому, функционируют разные пути транспорта ДНК. Особо следует отметить данные по различной эффективности импорта ДНК разными фракциями митохондрий растений: менее дифференцированные митохондрии, без четко сформированной структуры крист импортировали значительно больше ДНК, по сравнению с более зрелыми митохондриями с развитыми кристами.

Принципиальных замечаний по тексту автореферата нет, результаты работы изложены четко и доступно.

Считаю, что диссертационная работа полностью соответствует специ-

альности 03.01.05 – физиология и биохимия растений (биологические науки), а также требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Эльконин Лев Александрович

доктор биологических наук (03.02.07 – генетика)
главный научный сотрудник отдела биотехнологии
Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока»,
410010, г. Саратов, ул. Тулайкова, д.7,
тел. (моб.) +79085566118, e-mail: lelkonin@gmail.com

Подпись Л.А. Эльконина заверяю: Чилякова И.М. ведущий специалист по кадрам

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации **Тарасенко Татьяны Андреевны «ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ МИТОХОНДРИЙ, УЧАСТВУЮЩИХ В ИМПОРТЕ ДНК»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Научные исследования механизмов трансмембранного переноса ДНК в митохондрии успешно проводятся группой д.б.н., профессора Ю.М. Константинова СИФИБР СО РАН уже многие годы. Одним из ключевых направлений этих исследований является изучение факторов, способствующих формированию транспортной системы растительных митохондрий для осуществления импорта ДНК, которому и посвящена диссертационная работа Т.А. Тарасенко. Для проведения исследований автором был разработан новый подход, позволяющий исследовать импорт ДНК не только в системе изолированных митохондрий (*in organello*), но и в природных условиях с использованием целых протопластов арабидопсиса в системе *in vivo*. Данный подход был успешно применен при изучении белковых факторов импорта ДНК, т.е. при проведении работы по выявлению роли белков митохондриальной мембраны в механизме транслокации ДНК из внешней среды в митохондриальный матрикс. Было убедительно продемонстрировано, что как *in organello*, так и в экспериментах *in vivo* происходит активация процесса импорта ДНК при «выключении» одной из изоформ митохондриального порина. Также в рамках диссертационной работы было обнаружено, что митохондрии из тканей трех, ранее не исследовавшихся в этом аспекте, растительных видов содержат как минимум два отдельных типа митохондрий, которые обладают разной способностью импортировать ДНК. Более того, автором исследованы кинетические особенности процесса импорта ДНК.

Представленная диссертационная работа является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований обнаружены новые данные, приблизившие научное сообщество к пониманию такого природного феномена как митохондриальный импорт ДНК. Полученные автором данные также могут способствовать разработке подхода к эффективной трансформации митохондрий *in vivo*. Достоверность представленных результатов подтверждена статистическим анализом. Методы, использованные в работе, адекватны поставленным задачам и соответствуют современному уровню методических подходов в данной области исследований.

Диссертация является цельной, завершенной работой с очевидными точками дальнейшего развития не только как важного направления фундаментальной науки, но и в плане ее применения в биотехнологии и медицине. Выводы из работы обоснованы. Таким образом, представленная диссертационная работа полностью отвечает всем требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам, а ее автор Тарасенко Татьяна Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Старший научный сотрудник Федерального государственного
Бюджетного учреждения науки Лимнологического института
Сибирского отделения Российской академии наук (ЛИН СО РАН),
кандидат биологических наук (шифр специальности -
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология)

Клименков Игорь Викторович

640033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
тел. 89021770159
E-mail: iklimen@mail.ru

Подпись И.В. Клименкова
ученый секретарь Н.В. Маниченко
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт Сибирского отделения
Российской академии наук (ЛИН СО РАН)
«05» декабря 2019 г.

5 декабря 2019 года

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации **Тарасенко Татьяны Андреевны** «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Обмен ДНК между органеллами играет важную роль в жизнедеятельности клетки и организма в целом. Эти явления связаны с горизонтальным переносом генов — одним из важнейших факторов молекулярной эволюции. Предполагается, что обнаруженная ранее компетентность митохондрий поглощать ДНК и является причиной высокой частоты событий горизонтального и внутриклеточного переносов ДНК. Однако, в настоящий момент информация о механизме, обеспечивающим трансмембранный перенос молекул ДНК в матрикс митохондрий, остается ограниченной. Проблема функционирования генома митохондрий и его взаимодействия с геномами других ДНК-содержащих органелл растительной клетки является одной из ключевых в современной физиологии растений. Она же имеет важнейшее значение для биотехнологии и генетической инженерии растений. В этой связи диссертационная работа Тарасенко Татьяны Андреевны, посвященная исследованию и характеристике факторов белковой и небелковой природы, обеспечивающих транслокацию ДНК в митохондрии растений, является актуальной и практически значимой. Автором получены новые данные об участии ряда трансмембранных белков митохондрий в импорте ДНК в митохондрии арабидопсиса, с использованием митохондрий картофеля показаны кинетические особенности импорта молекул ДНК разной длины, выявлены 2 самостоятельных типа митохондрий, выделенных из листьев арабидопсиса, корнеплодов репы и проростков кукурузы с разной способностью к поглощению ДНК. В рамках данной работы также был разработан новый методический подход, позволяющий исследовать импорт ДНК в системе *in vivo*.

Хотя достоверность результатов и выводов не вызывает сомнений, к статистической части работы имеется пара **вопросов**:

1. Планки погрешностей на гистограммах в подписи к рисункам 2-4, 8-11, 13 обозначаются не общепринятым термином «допуски», при этом на одних рисунках это «стандартные отклонения», в других - «среднеквадратичные ошибки». Что имелось в виду под «среднеквадратичной ошибкой»? Обычно этот показатель не используется при анализе вариации, а характеризует временные и пространственные преобразования.

2. С помощью каких критериев оценивалась достоверность различий между выборками на рис. 9-11, 13 и табл. 2?

В целом, автореферат выстроен последовательно, логично, использованные в работе методы и методологические подходы обоснованы и адекватны поставленным задачам. Автором проделана большая по объему работа, выполненная на высоком научном уровне с привлечением – и это нужно отметить особо, - новых подходов и разнообразных современных методов анализа. Работа имеет высокую теоретическую и прикладную значимость. Полученные Татьяной Андреевной Тарасенко новые данные о механизмах импорта ДНК позволяют расширить современные представления об этом явлении и будут способствовать разработке модельной системы для генетической трансформации митохондриального генома.

С учетом актуальности выполненных исследований, научной новизны и достоверности полученных результатов, представленная диссертационная работа удовлетворяет всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам, а ее автор - Тарасенко Татьяна Андреевна, - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Доцент кафедры физико-химической биологии
Биолого-почвенного факультета
ФГБОУ ВО «Иркутский Государственный Университет»,
кандидат биологических наук
(03.02.08 – Экология; 03.01.04 - Биохимия) Приставка Алексей Александрович

664047, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора
Тел.: (3952)241870, (3952) 241855
E-mail: pristavk@gmail.com

9 декабря 2019 года

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Тарасенко Татьяны Андреевны «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – «Физиология растений».

Вариабильность митохондриального генома растительных и животных клеток, является незыблемой чертой биологической системы, очевидно представляя собой элемент, определяющий эволюцию биологического вида. Такая вариабильность - есть результат как внешнего альтерирующего воздействия, в частности ионизирующего излучения, действия ксенобиотиков и окислительного стресса, так и направленного транспорта внутрь митохондрий нуклеиновых кислот, способных осуществить трансформации структуры и функционирования самого генома. Очевидная роль участия процесса транспорта нуклеиновых кислот в митохондрии определяет важность изучения данного процесса с целью недопустить изменения, которые могут быть рассмотрены как патогенные, ведущие к гибели биологической системы, но с другой стороны это может служить основой стратегии для направленного изменения генома в нужном направлении, в частности для коррекции произошедших нежелательных изменений генома.

Работа Т.А.Тарасенко преставляет собой прекрасный пример таких исследований, с четко обозначенными и крайне актуальными целями вследствие не только необходимости понимания фундаментальных основ процессов, ответственных за транспорт нуклеиновых кислот, в частности ДНК-овых субстратов в митохондриях, но и для возможного предоставления практических рекомендаций по направлению исследований и изменению генома в желательном направлении.

Примечательной особенностью работы явилось то, что автор отходит от легкого и не всегда адекватно отражающего реальную ситуацию пути работы с инвитровой системой, а занимается исследованиями искомых процессов на клеточной системе, что является с одной стороны архитрудной, но с другой и архиважной работой.

Автору удалось доказать множественность механизмов транспорта ДНК в митохондрии в зависимости от длины транспортируемых молекул, что говорит о наличии в митохондрий неких страхующих систем, обеспечивающий транспорт нуклеиновых кислот в митохондрии. Прекрасно и убедительно выглядит доказанное участие митохондриальных поровых белков внешней мембраны митохондрий и изменение в их изоферментом составе и функционировании в зависимости от условий. Второй исчерпывающе исследованной группой компонентов, участвующих в транспорте ДНК, явились транспортные белки, такие как OM47, MIC60 и DRP. Приятным для меня лично

было исследование роли белка TSPO, неоднозначная, непонятная, но очевидно очень важная функция которого заставляет меня следить за любым прогрессом в области его изучения. Еще одним, очень важным моментом было подрепление идеи, что гетерогенность популяции митохондрий в значительной степени определяет возможность не только возникновения изменений в митохондриальном геноме, но функцональные свойства митохондрии, связанные с транспортом ДНК внутрь.

Работа выполнялась с применением комплекса современных молекулярно-биологических, физико-химических и цитологических методов. Научная новизна и практическая значимость диссертационной работы не вызывает сомнении, а сделанные выводы вытекают из полученных результатов, что позволяет считать их вполне обоснованными. Публикации раскрывают основное содержание диссертации.

Знакомство с авторефератом диссертационной работы Т.А.Тарасенко позволяет сделать заключение, что эта работа выполнена на актуальную тему с использованием самых современных методов, содержит ряд новых и важных результатов и соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. N842, предъявляемых ВАК Минобразования и науки РФ к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений, а ее автор Татьяна Андреевна Тарасенко, несомненно, заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Зоров Дмитрий Борисович,
Зав.отделом функциональной биохимии биополимеров
НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского
Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова,
действительный член европейской академии наук,
доктор биологических наук,
профессор

Адрес организации, 119991 Москва, Воробьевы горы, строение 40
НИИФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ
Тел: 7-495-939-5944, ФАКС: 7-495-939-3188
Email: zorov@belozersky.msu.ru

ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
Зав.канцелярией

ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Тарасенко Татьяны Андреевны «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.01.05 физиология и биохимия растений.

Диссертационная работа Тарасенко Татьяны Андреевны посвящена высоко актуальному разделу молекулярной биологии, а также физиологии и биохимии растений – изучению системы транспорта митохондрий, обеспечивающей импорт ДНК. Понимание данных механизмов важно не только для решения важных вопросов биотехнологии, но и для развития новых высокотехнологичных методов молекулярной медицины.

Цель и задачи диссертационной работы логично сформулированы. Выбранные Татьяной Андреевной объекты исследования адекватны для решения поставленных задач. В работе использованы современные методы микроскопии, технологии импорта ДНК, и широкий арсенал методов ПЦР. Все это в целом позволило Соискателю получить новые оригинальные данные о роли белков-переносчиков внешней митохондриальной мембраны в импорте ДНК, закономерностях импорта ДНК в митохондрии и влиянии на данный процесс структурно-функциональных особенностей митохондрий. Результаты исследования обобщены в четко сформулированных выводах и положениях, выносимых на защиту, опубликованы в 13 публикациях различных Российских и зарубежных научных изданий, в том числе и в журналах, рекомендованных ВАК, а также доложены и обсуждены на 7 Всероссийских и международных конференциях.

Исходя из оформления и содержания автореферата, диссертация **Тарасенко Татьяны Андреевны «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК»** соответствует требованиям, устанавливаемым п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г., предъявляемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.01.05 физиология и биохимия растений.

Ведущий научный сотрудник научного
отдела экспериментальной хирургии
с виварием ФГБНУ «Иркутский научный
центр хирургии и травматологии»,
кандидат биологических наук (14.00.16),
доцент (14.03.03)

Судаков Николай Петрович

664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1
тел. +79832411369
e-mail: npsudakov@gmail.com

13.12.2019

Подпись НП Судакова удостоверяю
Начальник отдела кадров НР Науменкова
«13» декабря 2019 г.

ОТДЕЛ КАДРОВ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения
Российской академии наук»
630090, г.Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

Отзыв

на автореферат диссертации **Тарасенко Татьяны Андреевны**
«Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК»,
представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Диссертационная работа Тарасенко Т.А. посвящена исследованию механизмов транспортной системы митохондрий растений, обеспечивающих перенос фрагментов экзогенных ДНК в митохондриальный геном. Несмотря на то, что феномен переноса (импорта) ДНК в геном митохондрий был открыт у растений около двух десятилетий назад, к настоящему моменту времени исследователями накоплено достаточно много данных, свидетельствующих о том, что это явление довольно широко распространено не только в растительных клетках, но также у дрожжей и в клетках животных. Захват митохондриями фрагментов экзогенных ДНК представляет собой не только большую фундаментальную проблему, имеющую огромное значение с точки зрения эволюции живых организмов, но и может иметь большое прикладное значение, например, в биотехнологии для направленной модификации митохондриальных геномов. Таким образом, выявление особенностей и механизмов доставки экзогенных ДНК в геномы митохондрий растительных клеток, что и является целью рассматриваемой диссертационной работы, представляется актуальной и значимой проблемой. Актуальность данного направления исследований не вызывает сомнения как в теоретическом, так и практическом аспектах. Полученные диссертантом данные могут быть использованы для более глубоко понимания клеточных процессов и их молекулярных механизмов, лежащих в основе поглощения экзогенных ДНК митохондриями в растительных клетках.

В основу исследования диссертантом был положен скрупулезный анализ различных белков-кандидатов, обладающих различными функциями, которые могли бы обеспечить перемещение экзогенных ДНК в митохондриальный геном. С применением коллекции мутантов *A.thaliana* эта задача решена диссертантом блестяще. Установлено, что только некоторые белки из списка кандидатов задействованы в процессах импорта ДНК в митохондриальный геном. Одной из положительных сторон данной диссертационной работы является выявление гетерогенности митохондриальной популяции, представленной митохондриями на разных стадиях созревания. Именно этот фактор также является значимым для обеспечения импорта ДНК в митохондрии. Диссертантом впервые разработана система, позволяющая проводить исследования по импорту ДНК в целых клетках (*in vivo*). Необходимо подчеркнуть, что наличие удобных и надежных модельных систем является залогом успеха любого исследования.

При выполнении диссертационной работы Т.А. Тарасенко использованы современные биологические методы, в том числе методы молекулярного анализа и электронной микроскопии. На основании приведенного в автореферате иллюстрационного материала нет сомнения в правильности и корректности интерпретации полученных данных.

Основные научные результаты диссертационной работы были опубликованы в виде 2 статей в рецензируемых журналах из списка ВАК, в одной из которых диссертант

является первым автором и 11 статей – в сборниках материалов зарубежных и отечественных конференций.

В целом диссертационная работа Татьяны Андреевны Тарасенко «Изучение факторов транспортной системы растительных митохондрий, участвующих в импорте ДНК», по актуальности, научной новизне, практической значимости и обоснованности сделанных выводов полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.03.2013 г. № 842, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Зав. лабораторией биоинженерии растений
Федерального государственного бюджетного
Научного учреждения «Федеральный исследовательский
Центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»
доктор биологических наук по специальности 03.02.07 - Генетика,
профессор

03 декабря 2019 года _____ Елена Викторовна Дейнеко

Адрес организации:
630090, Новосибирск, пр-т акад. Лаврентьева, д. 10
тел.: (383)3634963 *3204
e-mail: deineko@bionet.nsc.ru

Подпись Е.В. Дейнеко заверяю
Ученый секретарь Института
к.б.н. Галина Владимировна Орлова