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 02 марта 2016 г. № 1

о присуждении **Белькову Вадиму Игоревичу** (Российская Федерация) ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изучение ретроградной регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы *GDH1* и *GDH2 Arabidopsis thaliana*» **по специальности** 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» принята к защите 23 декабря 2015 г., протокол №7 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 Бельков Вадим Игоревич, 1990 года рождения, работает младшим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Сибирском институте 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 2012 году соискатель окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Иркутский государственный университет.

В 2015 году Бельков Вадим Игоревич окончил очную аспирантуру с представлением рукописи.

Научный руководитель – Константинов Юрий Михайлович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, заведующий лабораторией генетической инженерии растений.

Официальные оппоненты:

1. Шпаковский Георгий Вячеславович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение науки Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, заведующий лабораторией механизмов генной экспрессии.

2. Кирильчик Сергей Васильевич, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории ихтиологии.

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН в своем **положительном заключении**, подписанным Щербань Андреем Борисовичем, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений, отмечает, что диссертационная работа «Изучение ретроградной регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы *GDH1* и *GDH2 Arabidopsis thaliana*» по актуальности проблемы, методическому уровню решения, объему проделанной работы, теоретической и практической ценности полученных результатов соответствует требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, а ее автор, Вадим Игоревич Бельков, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Соискатель имеет 11 опубликованных работ по теме диссертации, **в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК – 4 работы.**

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Е.Ю. Гарник, В.И. Бельков, В.И. Тарасенко, Т.В. Потапова, М.А. Корзун, Ю.М. Константинов. Экспрессия гена глутаматдегидрогеназы *gdh2* арабидопсиса индуцируется под влиянием ингибитора синтеза тетрапирролов норфлуразона // Журнал стресс-физиологии и биохимии. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 299-309.
2. Е.Ю. Гарник, В.И. Бельков, В.И. Тарасенко, Ю.М. Константинов. Роль сахарозависимой регуляции в светозависимых изменениях экспрессии генов *gdh1* и *gdh2* арабидопсиса // Журнал стресс-физиологии и биохимии. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 67-76.

3. E.Yu. Garnik, D.V. Deeva, V.I. Belkov, V.I. Tarasenko, Yu.M. Konstantinov. Effects of light intensity on development and chlorophyll content in the *Arabidopsis* mutant plants with defects in photosynthesis // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. – 2015. – Vol. 10, No 4. – P. 58-67.
4. Е.Ю. Гарник, В.И. Бельков, В.И. Тарасенко, М.А. Корзун, Ю.М.Константинов. Экспрессия генов глутатионредуктазы *Arabidopsis thaliana* зависит от хлоропластных сигналов // Биохимия. – 2016. – т. 81.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Д.б.н. В.Л. Семерикова, Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург; 2. Д.б.н. Е.Ю. Маркова, НИИПЧИ, г. Иркутск; 3. Д.б.н. Ф.В. Минибаевой, Казанский институт биохимии и биофизики, г. Казань; 4. Д.б.н., проф. Н.Н. Марфенина, МГУ, г. Москва; 5. Д.б.н. А.М. Куликова и чл.-кор., д.б.н., проф. В.М. Захарова, ИБР РАН, г. Москва; 6. Д.б.н., В.К. Плотникова, Кубанский государственный аграрный университет, г. Краснодар; 7. Д.б.н., проф. В.М. Юрина и к.б.н., доц. Г.Г. Филипцовой, Белорусский государственный университет, Белоруссия, г. Минск; 8. Д.б.н., проф. Е.В. Дейнеко, ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск; 9. Д.б.н., проф. А.В. Чемериса и к.б.н. Б.Р. Кулуева, ИБГ УНЦ РАН, г. Уфа; 10. К.б.н., доц. А.А. Батраевой и к.б.н., доц. А.В. Третьяковой, ИГУ, г. Иркутск.

В качестве замечаний в отзывах указывается.

Замечания в отзыве ведущей организации: 1. В подразделе Введения «Теоретическая и практическая значимость работы» речь идет исключительно о теоретической значимости. Хотелось бы, чтобы автор продемонстрировал бы более наглядно: как практически можно использовать полученные результаты; 2. В разделе «Обзор литературы» подраздел 1.1 имеет слишком узкое название, относящееся скорее к пункту 1.1.2.2. «Регуляция экспрессии генов …». Также информация представленная в этом подразделе касается только экспрессии анализируемых генов у арабидопсиса и фактически дублирует то, что изложено в п. 1.1.2.2; 3. В подразделе 1.1.2 представлены данные, полученные, главным образом, на модельных арабидопсисе и табаке (который весьма близок к первому по генетике изучаемого фермента). Название же подраздела претендует на более масштабное описание. Если информации по другим растениям недостаточно, то почему бы не убрать пункт 1.1.2. вообще; 4. Более логичным начинать обзор литературы с общих тем, касающихся всех растений, а затем переходить к объекту исследования. В этой связи подразделы 1.2, 1.3 следует переставить в начало, тогда как подраздел 1.1 – после первых двух; 5. В

разделе «Результаты и обсуждение» пункт 3.3.2.6. по сути не относится к подразделу 3.3.2. так как описывает общее физиологическое значение светозависимой регуляции *GDH1* и *GDH2*. К тому же в нем нет конкретных результатов автора. Поэтому его следует перенести в соответствующую часть обзора литературы; 6. Заключение слишком подробное, много методических деталей и повторных описаний экспериментов;

Замечания в отзыве официального оппонента д.б.н. Г.В. Шпаковского: 1. Обзор литературы не имеет обобщающего названия, что привело к его некоторой хаотичности; 2. Ряд неточностей в Списке используемой литературы, (стр. 14); 3. Текст обзора стоило проиллюстрировать большим числом рисунков, таблиц или попросту наглядных схем регуляции активности генов; 4. Несоответствие в экспериментальных данных, приведенных в диссертации (рис. 20) и в автореферате (рис. 7); 5. Имеются редакционные недочеты.

Замечания в отзыве официального оппонента к.б.н. С.В. Кирильчика: 1. В обзоре литературы нет главы, посвященной методам исследования экспрессии генов; 2. Остался неясным ряд вопросов проведения экспериментов. Какова длина ампликонов? Какие методы использовались для получения относительных значений флуоресценции? Использовались ли стандарты? Каковы показатели калибровочной кривой? Использовались ли повторы при постановке кПЦР; 3. Имеются редакционные недочеты.

Д.б.н., проф. В.М. Юрин и к.б.н., доц. Г.Г. Филипцова: чем обусловлен примерно одинаковый уровень экспрессии генов *GDH1* и *GDH2* в контроле в темноте и на свету при изучении роли АФК (Рис. 11)?

Д.б.н. Ф.В. Минибаева: можно не согласиться с выводом 4. Во-первых, неточна формулировка – перекись водорода принадлежит к АФК. Во-вторых, несмотря на то, что данные с применением избыточной освещенности автор считает важными и включил их в выводы, в тексте автореферата они не представлены.

Д.б.н., проф. Н.Н. Марфенин: в качестве пожелания хотелось бы обратить внимание автора на целесообразность выделения самостоятельной главы «Обсуждение результатов» для полномасштабного сравнивания собственных данных с аналогичными научными работами.

К.б.н., доц. А.А. Батраева и к.б.н., доц. А.В. Третьякова: к недостаткам можно отнести неточности, опечатки и отсутствие части материала касающегося вывода 4.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их широкой известностью своими достижениями в данной отрасли науки по специальности защищаемой диссертации. В ведущей

организации ФГБУН ИЦиГ СО РАН работают специалисты по физиологии и биохимии растений, генной экспрессии, молекулярной и общей генетике растений. Официальный оппонент д.б.н. Г.В. Шпаковский является известным специалистом в области молекулярной биологии и физиологии и биохимии растений, а второй официальный оппонент к.б.н. С.В. Кирильчик является авторитетным исследователем в области структуры и экспрессии генов органелл эукариот.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработано положение, вносящее значительный вклад в понимание механизмов регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы у арабидопсиса;

предложена оригинальная гипотеза о роли пластидных сигналов в регуляции экспрессии генов *GDH1* и *GDH2* и возможной физиологической роли глутаматдегидрогеназы в адаптации растений к изменениям факторов внешней среды;

доказана роль функционально активных хлоропластов в регуляции экспрессии генов *GDH1* и *GDH2*.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что:

доказано участие пластидных сигналов в регуляции экспрессии генов *GDH1* и *GDH2*, а также транскрипционного фактора ABI4 в сахарозависимой регуляции экспрессии гена *GDH2*.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных подходов и методов исследования;

изложены результаты, демонстрирующие роль транскрипционного фактора ABI4 в сахарозависимой регуляции экспрессии гена *GDH2* и непричастность гексокиназы 1 к данной регуляции; впервые обнаружено, что экспрессия исследуемых генов повышалась при отсутствии функционально активных хлоропластов, что указывает на участие пластидных сигналов в регуляции экспрессии генов *GDH1* и *GDH2*; впервые установлено, что изменения в редокс-состоянии пула пластохинона мембран тилакоидов приводят к повышению экспрессии исследуемых генов;

раскрыта роль редокс-сигналов в регуляции экспрессии генов *GDH1* и *GDH2*, возникающих при изменении редокс-состояния пула пластохинона тилакоидов и опосредуемых через АФК;

изучено участие сигнальных путей, опосредуемых HXK1, ABI4, белками группы GUN, АФК и редокс-состоянием пула мембран тилакоидов в регуляции экспрессии генов *GDH1* и *GDH2*;

проведена модернизация существующих представлений о регуляции экспрессии генов глутаматдегидрогеназы и роли пластидных сигналов в данном процессе.

Заключение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

определены принципиально новые пути регуляции экспрессии генов *GDH1* и *GDH2*, фермента, способного утилизировать глутамат, являющийся предшественником для синтеза хлорофиллов и глутатиона;

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 сельскохозяйственного профиля, а также при чтении лекций по физиологии и биохимии 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 и оборудования ЦКП Фитотрон СИФИБР 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 роли ретроградных сигналов в регуляции экспрессии ядерных генов;

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

установлено, что полученные результаты и сформулированные выводы не противоречат результатам, представленным в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки электронной информации, такие как PubMed, The Arabidopsis Information Resource (TAIR), научная электронная библиотека eLIBRARY.RU 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 02 марта 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Белькову Вадиму Игоревичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 18 докторов наук, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 18, против – 1, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель заседания
Диссертационного совета Д 003.047.01,
чл.-кор. РАН Саляев Рюрик Константинович

Ученый секретарь
Диссертационного совета Д 003.047.01,
кандидат биологических наук Акимова Галина Петровна

02 марта 2016 года