

Заключение диссертационного совета МГУ.015.6

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета № 94 от «7» февраля 2025 г. о присуждении **Лобревой Ольге Викторовне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Везикулярный транспорт H^+ -АТФазы Р-типа и ионов Na^+ при солевом стрессе у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.» по специальности 1.5.21. – Физиология и биохимия растений принята к защите диссертационным советом на заседании от 13.12.2024 г., протокол № 89.

Соискатель Лобрева Ольга Викторовна 1991 года рождения с 2013 по 2016 гг. проходила обучение в очной аспирантуре ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук» по специальности 03.01.05. Физиология и биохимия растений.

В настоящее время соискатель работает научным сотрудником в лаборатории транспорта иононов и солеустойчивости ФГБУН «Институт физиология растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории транспорта иононов и солеустойчивости ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук».

Научные руководители:

Балнокин Юрий Владимирович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией транспорта иононов и солеустойчивости;

Карпычев Игорь Викторович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации (в период подготовки диссертации до 01.06.2024).

Официальные оппоненты:

Казнина Наталья Мстиславовна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической физиологии растений и заместитель директора по научной работе Института биологии – обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук»;

Соловченко Алексей Евгеньевич – доктор биологических наук, профессор кафедры биоинженерии Биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

Мамаева Анна Станиславовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник и заведующая лабораторией системного анализа белков и пептидов ФГБУН ГНЦ РФ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук»,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Выбор официальных оппонентов обосновывался близостью их научных интересов к теме диссертации, наличием значительного числа публикаций в соответствующей сфере исследований за последние 5 лет, высоким уровнем профессионализма и отсутствием формальных препятствий к оппонированию.

Соискатель имеет всего 10 печатных работ, из них 5 статей по теме диссертации, в том числе 5 статей, опубликованных в зарубежных и отечественных переводных научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений:

1. Khalilova L.A., **Lobreva O.V.**, Nedelyaeva O.I., Karpichev I.V., Balnokin Y.V. Involvement of the Membrane Nanodomain Protein, AtFlot1, in Vesicular Transport of Plasma Membrane H⁺-ATPase in *Arabidopsis thaliana* under Salt Stress // *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, V. 24 (2), 1251. [JIF=4.9] 0.6 п.л. Вклад автора: выращивание растений в условиях водной культуры, изучение характеристик инсерционного нокаут-мутанта, выделение мембран и их очистка, определение содержания H⁺-АТФазы в мембранах, оценка экспрессии генов, подготовка материалов к публикации, участие в обсуждении и написании статьи.

2. **Sergienko (Lobreva) O.V.**, Khalilova L.A., Orlova Y.V., Shuvalov A.V., Myasoedov N.A., Karpichev I.V. Mutation of the ARA7/AtRabF2b gene, that increases the content of the Ara7 protein regulating endocytic trafficking pathways, improves salt tolerance of the *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. plants // *Russian Journal of Plant Physiology*, 2022, V. 69 (1), 11. [JIF=1.1] 0.5 п.л. / Вклад автора: выращивание растений в условиях водной культуры, изучение характеристик мутантного растения, включая определение гомозиготности, картирование начала транскрипции мРНК, выявление дополнительных вставок ТДНК в геноме мутантного растения, оценка экспрессии генов; экспрессия целевого гена для использования в качестве положительного контроля для иммуноферментного анализа, подготовка материалов к публикации, участие в обсуждении и написании статьи.

3. Khalilova L.A., **Sergienko (Lobreva) O.V.**, Orlova Y.V., Myasoedov N.A., Karpichev I.V., Balnokin Y.V. *Arabidopsis thaliana* mutant with T-DNA insertion in the Flot1 (At5g25250) gene promoter possesses increased resistance to NaCl // *Russian Journal of Plant Physiology*, 2020, V. 67 (2), 275-284. [JIF=1.1] 0.3 п.л. Вклад автора: выращивание растений в условиях водной культуры, выявление гомозиготных растений, оценка экспрессии генов, подготовка материалов к публикации, участие в обсуждении и написании статьи.

4. Orlova Y.V., **Sergienko (Lobreva) O.V.**, Khalilova L.A., Voronkov A.S., Fomenkov A.A., Nosov A.V., Popova L.G., Shuvalov A.V., Ryabova A.V., Balnokin Y.V. Sodium transport by endocytic vesicles in cultured *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. cells // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 2019, V. 55 (4), 359-370. [WoS, JIF=2.2] 0.4 п.л. Вклад автора: проведение экспериментов по идентификации ионов натрия в эндоцитозных везикулах в динамике ответа клеток на солевой шок, подготовка материалов к публикации, участие в обсуждении и написании статьи.

5. Орлова Ю.В., **Майорова (Лобрева) О.В.**, Халилова Л.А., Воронков А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Попова Л.Г., Балнокин Ю.В. Участие эндоцитоза в поглощении ионов натрия клетками суспензионной культуры *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // *Биологические мембраны*, 2018, Т. 35 (4), 309-317. doi: 10.1134/S0233475518040114 [JIF=0.1] 0.3 п.л. Вклад автора: проведение экспериментов по идентификации ионов натрия в эндоцитозных везикулах, подготовка материалов к публикации, участие в обсуждении и написании статьи.

На диссертацию и автореферат поступило 5 **дополнительных отзывов**, все отзывы – положительные.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой:

- впервые выявлено, что белок мембранных нанодоменов Flot1 у *Arabidopsis thaliana* вовлечен в везикулярный транспорт H^+ -АТФазы Р-типа и осуществляет регуляцию содержания этого фермента в плазматической мембране в условиях солевого стресса; при этом Flot1 вовлечен как в экзоцитозные, так и эндоцитозные пути переноса H^+ -АТФазы везикулами;

- показано, что хлористый натрий стимулирует доставку H^+ -АТФазы Р-типа к плазмалемме, активируя экзоцитозный путь, связанный с образованием поздних эндосом, что, по-видимому, приводит к возрастанию протонного градиента и стимуляции вторично-активных транспортных процессов через мембрану;

- впервые продемонстрировано, что в Na^+ -гомеостатирование клеток *Arabidopsis thaliana* в условиях солевого стресса вовлечен транспорт Na^+ непосредственно эндоцитозными везикулами: поступающие в клетки Na^+ -содержащие везикулы сливаются с вакуолями, что позволяет поддерживать цитоплазматические концентрации Na^+ на нетоксическом уровне;

- показано, что при солевом стрессе оба процесса, в частности NaCl-индуцированные изменения содержания H^+ -АТФазы в плазматической мембране и перенос Na^+ непосредственно везикулами, вносят вклад в поддержание ионного гомеостаза клеток.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные в работе данные имеют фундаментальный характер. Они расширяют представление о роли белков мембранных нанодоменов флотиллинов в везикулярном транспорте белков и ремоделировании белкового состава мембран при солевом стрессе у высших растений, в частности у *Arabidopsis thaliana*. Наряду с этим работа вносит вклад в понимание физиологической роли везикулярного транспорта ионов в защите растений от солевого стресса. Исследование этих процессов имеет важное значение для расшифровки механизмов, лежащих в основе солеустойчивости растений.

Значение полученных соискателем результатов для практики. Полученные результаты о повышенной солеустойчивости и продуктивности мутанта *Arabidopsis thaliana* со сверхэкспрессией Flot1 могут быть использованы в генной инженерии для

улучшения соответствующих характеристик культурных растений. Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством.

Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. В поддержание цитоплазматических концентраций Na^+ на нетоксическом уровне в условиях солевого стресса вносят вклад как NaCl -индуцированные изменения содержания ион-транспортирующих белков в плазмалемме, так и транспорт Na^+ непосредственно эндоцитозными везикулами.

2. Соотношение скоростей экзоцитозного и эндоцитозного путей переноса H^+ -АТФазы Р-типа у *A. thaliana* является одним из факторов, определяющих содержание этого фермента в плазматической мембране.

3. Хлористый натрий в среде выращивания растений активирует экзоцитозный путь переноса H^+ -АТФазы Р-типа, связанный с образованием поздних эндосом/мультивезикулярных тел, смещая баланс экзоцитоз/эндоцитоз в пользу экзоцитоза и приводя этим к возрастанию содержания H^+ -АТФазы в плазмалемме клеток растений ДТ.

4. В эндоцитозные и экзоцитозные пути переноса H^+ -АТФазы Р-типа у *A. thaliana* вовлечен белок мембранных нанодоменов Flot1.

5. В Na^+ -гомеостатирование клеток *A. thaliana* в условиях солевого стресса вовлечен «захват» ионов Na^+ эндоцитозными везикулами с последующим их слиянием с вакуолями, что способствует поддержанию цитоплазматических концентраций Na^+ на нетоксическом уровне.

На заседании «7» февраля 2025 г. диссертационный совет принял решение присудить **Лобревой Ольге Викторовне** ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за **20**, против **0**, недействительных бюллетеней **0**.

Председатель
диссертационного совета

Ильинский В.В.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Гершкович Д.М.

«7» февраля 2025 г.