

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук Лобревой Ольги Викторовны**  
**на тему: «ВЕЗИКУЛЯРНЫЙ ТРАНСПОРТ Н<sup>+</sup>-АТФАЗЫ Р-ТИПА И**  
**ИОНОВ Na<sup>+</sup> ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ У *Arabidopsis thaliana* (L.)**  
**Heynh.»**  
**по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений**

Диссертационная работа Лобревой Ольги Викторовны посвящена роли везикулярного транспорта в поддержании внутриклеточного гомеостаза ионов натрия при солевом стрессе. В работе показано, что солевой стресс модулирует содержание Н<sup>+</sup>-АТФазы в плазматической мембране посредством клатрин-независимого пути везикулярного транспорта. Кроме того, выявлено, что в транспорт ионов натрия вовлечены эндоцитозные везикулы. На данный момент в литературе имеется крайне мало сведений о том, каким образом везикулярный транспорт задействован в регуляции адаптации растений к солевому стрессу. Таким образом, работа актуальна и обладает большой новизной.

Засоление является крайне неблагоприятным для растений фактором среды, тогда как почвы с повышенным содержанием соли составляют значительную часть от всех наземных территорий. Избыточные концентрации хлорида натрия приводят к целому ряду негативных эффектов, включая нарушение роста и развития, повреждение макромолекул, ингибирование фотосинтеза и нарушение минерального питания. Таким образом, полученные Ольгой Викторовной результаты обладают не только теоретической, но и несомненной практической значимостью.

Диссертация состоит из традиционных разделов: “Введение”, “Обзор литературы”, “Материалы и методы исследования”, “Результаты исследований и их обсуждение”, “Заключение”, “Выводы”, “Список литературы”. Работа представлена на 148 страницах, список литературы содержит 267 источников.

В обзоре литературы приведено описание везикулярного транспорта, проведено сравнение клатрин- и флотиллин-зависимого типов эндоцитоза, суммированы данные о регуляции содержания белков в мембранах посредством везикулярного транспорта, подробно разобрано строение, механизм работы и физиологическая роль Н<sup>+</sup>-АТФазы плазмалеммы, освещены косвенные свидетельства транспорта ионов натрия везикулами и приведены данные об индикаторах и ингибиторах, использованных в работе. В обзоре автор продемонстрировала глубокое понимание проблемы и проанализировала большое количество современных зарубежных источников.

В работе применен широкий спектр современных методов и подходов, который позволил автору решить поставленные задачи на высоком методическом уровне. Эти методы включают выделение нуклеиновых кислот, количественный ПЦР-анализ, вестерн-блотинг, выделение мембранных фракций, флуоресцентную, конфокальную и трансмиссионную электронную микроскопию. Использованные методы описаны полно и аккуратно.

В работе были использованы мутантные линии арабидопсиса с нокаутом и сверхэкспрессией гена флотиллина, подробно охарактеризованные автором. У этих мутантов проанализировано содержание Н<sup>+</sup>-АТФазы в плазмалемме и экспрессия кодирующих её генов в ответ на солевой стресс, исследована интенсивность везикулярного транспорта и ультраструктурные изменения. Было показано, что при солевом стрессе эндоцитозные везикулы содержат ионы натрия, а также увеличивается вакуолизация цитоплазмы. Таким образом, проведён большой объём тщательно выполненных экспериментов, направленных на выявление разных аспектов взаимосвязи везикулярного транспорта и солевого стресса. Одним из достоинств работы является качественный иллюстративный материал.

Выводы работы и положения, выносимые на защиту, обоснованы и соответствуют поставленной цели. Автореферат диссертации отражает основные результаты исследования.

Несмотря на очевидные достоинства работы, также имеется ряд вопросов и замечаний:

1. В литературном обзоре избыточно подробно описана структура, каталитический цикл, количество генов у разных растений, механизм регуляции активности  $H^+$ -АТФазы Р-типа. При этом более подробное освещение механизмов транспорта ионов натрия и хлора в клетке существенно упростило бы читателю понимание полученных результатов;
2. При описании электрофореза белков указаны концентрации стоковых растворов, а не финальные концентрации реагентов (с. 65);
3. В результатах приведено по два рисунка с номерами 16 и 17. Можно было либо объединить пары этих рисунков в один, либо присвоить каждому рисунку отдельный номер;
4. С учётом того, что в работе выявлено флотиллин-зависимое изменение содержания  $H^+$ -АТФазы в плазматической мембране при солевом стрессе, представляется интересным исследовать влияние этих же факторов на мембранный потенциал клеток;
5. В работе показано наличие ионов натрия в эндоцитозных везикулах при солевом стрессе и высказано предположение, что интернализация натрия посредством эндоцитоза вносит вклад в адаптацию к стрессу. При этом известно, что в мембране эндосом присутствуют  $Na^+/H^+$  антипортеры. Возможно, эксперименты, направленные на выявление роли этих переносчиков в накоплении ионов натрия в эндосомах дополнили бы исследование;
6. В тексте имеется ряд опечаток и орфографических ошибок.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений (по

биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Лобрева Ольга Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,  
заведующий лаборатории, научный сотрудник  
лаборатории системного анализа белков и пептидов,  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Государственный Научный Центр Российской Федерации  
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.  
Овчинникова Российской Академии Наук,

МАМАЕВА Анна Станиславовна

28. 01. 2025

Контактные данные:

тел.: ; e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом  
защищена диссертация:

03.01.05. - Физиология и биохимия растений

Адрес места работы:

0117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

Институт биоорганической химии

Тел.: e-mail: