

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.027.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ»
(МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № ____

решение диссертационного совета от 30 июня 2020 г., № 1

О присуждении Берестовому Михаилу Алексеевичу гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационная работа «Дельта-9-Ацил-липидная десатураза: локализация и функциональная роль в растительной клетке» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 24 апреля 2020 г., протокол № 5, диссертационным советом Д 006.027.07, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии по адресу 127550, Москва, Тимирязевская 42 (Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации № 714/нк от 2 ноября 2012 г. о продлении полномочий диссертационного совета).

Соискатель Берестовой Михаил Алексеевич 1984 года рождения.

В 2008 г. окончил факультет медицинской физики и биоинженерии Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого (ФГАОУ ВО СПбПУ) и решением Государственной аттестационной комиссии ему была присуждена квалификация магистра прикладных математики и физики по направлению «прикладные математика и физика». В

2014 г. Берестовой Михаил Алексеевич поступил в очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева) по научной специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). В 2018 г. в ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева выдан диплом по программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки. Решением Государственной экзаменационной комиссии Берестовому Михаилу Алексеевичу присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь». В период обучения в очной аспирантуре Берестовой Михаил Алексеевич работал в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ" (НИЯУ «МИФИ»)), в настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории электрофизиологии, института фундаментальной неврологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр мозга и нейротехнологий Федерального медико-биологического агентства (ФЦМН ФМБА России).

Диссертационная работа выполнена на базе группы функциональной геномики отдела физиологических и молекулярных механизмов регуляции процессов онтогенеза и адаптации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева Российской академии наук (ИФР РАН). Научный руководитель – доктор биологических наук, доцент, **Голденкова-Павлова Ирина Васильевна**, руководитель группы функциональной геномики отдела физиологических и молекулярных механизмов регуляции процессов онтогенеза и адаптации ИФР РАН.

Официальные оппоненты:

1. **Кулуев Булат Рязанович**, доктор биологических наук (специальность 03.01.03 - молекулярная биология), заведующий лабораторией геномики растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (450054, г. Уфа, пр-т Октября 71, Тел./факс: +7 347 235-60-88, kuluev@bk.ru).

2. **Васина Дарья Владимировна**, кандидат биологических наук (специальность 03.01.04 - биохимия), научный сотрудник лаборатории молекулярных основ биотрансформаций «ФГУ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (119071, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2, Тел./факс: +7 (495) 954-52-83 / +7 (495) 954-27-32, d.v.vasina@gmail.com).

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) (117997, г. Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10; Тел./факс: +7 (495) 335-01-00 / +7 (495) 335-08-12, E-mail: office@ibch.ru) в своем положительном отзыве, подписанном Князевым Андреем Николаевичем, кандидатом биологических наук, научным сотрудником лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, а также Завриевым Сергеем Кириаковичем, членом-корреспондентом РАН, профессором, доктором биологических наук, заведующим отделом молекулярной биологии и биотехнологии растений, и утвержденным Габибовым Александром Габибовичем, доктором биологических наук, академиком РАН, директором ИБХ РАН, указали, что диссертационная работа Берестового Михаила Алексеевича «Дельта-9-Ацил-липидная десатураза: локализация и функциональная роль в растительной клетке» по своей актуальности,

научной новизне и теоретической значимости соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет 11 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 3 статьи в научных журналах из перечня ВАК, 2 из которых индексируются в базе данных Web of Science и/или Scopus. Авторский вклад соискателя в опубликованных работах составляет не менее 70%. Основные результаты исследований представлены в материалах 8 всероссийских и международных конференций.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

Тюрин, А.А. Простая и надежная система транзientной экспрессии генов для характеристики сигнальных последовательностей и оценки локализации целевых белков в растительной клетке / А.А Тюрин, К.В. Кабардаева, **М.А. Берестовой**, Ю.В. Сидорчук, А.А. Фоменков, А.В. Носов, И.В. Голденкова-Павлова // Физиология растений - 2017. - Т.64, № 4. - С. 363-371.

Берестовой, М.А. Растительные десатуразы: роль в жизнедеятельности растений и биотехнологический потенциал / М.А. Берестовой, О.С. Павленко, И.В. Голденкова-Павлова // Успехи современной биологии. - 2019. -Т. 139, № 4. - С. 338-351.

Berestovoy, M.A. Altered fatty acid composition of *Nicotiana benthamiana* and *Nicotiana excelsior* leaves under transient overexpression of the cyanobacterial desC gene / M.A. Berestovoy, O.S. Pavlenko, A.A. Tyurin, E.N. Gorshkova, I.V. Goldenkova-Pavlova // *Biologia plantarum*. - 2020. - V. 64. - P. 167-177.

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов. Все отзывы положительные. Авторы отмечают актуальность и научную новизну,

высокий методический уровень работы, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, обоснованность выводов и положений, выносимых на защиту. Все авторы отмечают, что диссертационная работа отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Берестовой Михаил Алексеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

На диссертацию и автореферат прислали отзывы:

1. **Ермошин Александр Анатольевич**, кандидат биологических наук, доцент кафедры экспериментальной биологии и биотехнологии Института естественных наук и математики ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. Первого президента России Б.Н. Ельцина. Отзыв положительный, содержит небольшие замечания о желательности сравнения полученных в нормальных условиях результатов со стрессовыми условиями, о возможно более удобном для статистической обработки данных непараметрическом критерии Манна-Уитни.
2. **Румянцева Наталья Ивановна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая группой «Биология клеток *in vitro*», Казанского института биохимии и биофизики - обособленного структурного подразделения Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр РАН». Отзыв положительный, содержит замечания об отсутствии в автореферате объяснения, почему наибольшая активность гетерологичной дельта-9 десатуразы у *N. benthamiana* наблюдается в хлоропластах, а у *N. excelsior* – в ЭПР; почему в качестве промежуточной структуры для синтеза ненасыщенных жирных кислот в цитоплазме рассматриваются липидные тельца, а не пероксисомы или мембранные везикулы, а также о слишком общем выводе 3.

3. **Замараев Алексей Владимирович**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории исследования механизмов апоптоза Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Отзыв положительный, содержит замечания о дублировании данных в таблице 3 и спорности выводов о приоритетности локализации дельта-9-ацил-липидной десатуразы в листьях *N. benthamiana*.
4. **Сидорчук Юрий Владимирович**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН. Отзыв положительный. Содержит замечания, относящиеся к редактированию текста автореферата, не затрагивающие сути работы.
5. **Шумилина Дарья Владимировна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии и селекции сельскохозяйственных растений сектора биотехнологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства». Отзыв положительный, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью, многолетним опытом работы и достижениями в молекулярно-генетических исследованиях, а также биотехнологической отрасли науки. Данные специалисты способны в полной мере оценить научную и практическую ценность диссертационной работы на основании их публикаций.

Доктор биологических наук Кулуев Булат Разяпович является специалистом в области молекулярной биологии, биотехнологии, генной инженерии, генетики и селекции растений. Под его руководством выполняются работы, направленные на создании трансгенных растений с

повышенной продуктивностью и стрессоустойчивостью с последующим их морфологическим и физиолого-биохимическим анализом. Также Кулуев Б.Р. проводит работы по поиску и исследованию новых ДНК-маркеров хозяйственно-ценных признаков культурных растений (холодоустойчивость, морозоустойчивость, засухоустойчивость, продуктивность) и принимает участие в создании новых сортов культурных растений с хозяйственно-ценными признаками.

<http://www.vniisb.ru/images/news/2020/04/e4.pdf>

Кандидат биологических наук Васина Дарья Владимировна является специалистом в области молекулярных основ ферментативной трансформации природных соединений и биополимеров, под ее руководством выполняются работы, направленные на изучение функциональных особенностей, физико-химических, биохимических и каталитических свойств ферментов базидиальных грибов и исследование механизмов регуляции их биосинтеза.

<http://www.vniisb.ru/images/news/2020/06/vasina.pdf>

В структуре ведущей организации ИБХ РАН имеется лаборатория функциональной геномики и протеомики растений, в которой проводится поиск новых функциональных пептидов у растений и выявление их биологической роли, редактирование генома растений с помощью CRISPR/Cas-технологии и разработка систем экспрессии рекомбинантных белков в растениях для установления их локализации и идентификации белок-белковых взаимодействий, изучение влияния стрессовых факторов на транскриптом, протеом и пептидом растительной клетки, а также связанные с анализом транскриптома, протеома и пептидома модельных и сельскохозяйственно-важных культур.

<http://www.vniisb.ru/images/news/2020/04/e5.pdf>

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненного соискателем исследования:

созданы экспрессионные векторные конструкции, несущие нативный и рекомбинантный ген *desC* (гомолога растительного гена FAD *Arabidopsis thaliana*) цианобактерий *Synechococcus vulcanus* с регуляторными последовательностями, обеспечивающими локализацию белкового продукта целевого гена в различных компартментах растительной клетки;

разработана простая и эффективная система транзientной экспрессии генов, удобная как для оценки сигнальных последовательностей, так и для изучения локализации заданных белков в растительной клетке;

доказано, что метод транзientной экспрессии позволяет оценить функциональную активность гетерологичной десатуразы;

доказано, что локализация белкового продукта гена *desC* в цитоплазме, хлоропластах и ЭПР приводит к достоверному изменению состава и массовой доли насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, суммарных липидов в листовой ткани растений.

установлены различия в изменении липидного метаболизма у растений с разным типом жирнокислотного состава при экспрессии гетерологичных десатураз и определена приоритетная локализация гетерологичных десатураз для растений с разным типом жирнокислотного состава.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс биотехнологических и биохимических методов для понимания особенностей функционирования гетерологичной $\Delta 9$ -ацил-липидной-десатуразы у растений;

изучена взаимосвязь различной локализации десатураз в растительной клетке и ее функциональная эффективность.

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

разработана и апробирована простая и эффективная система для оценки сигнальных последовательностей и для изучения локализации

заданных белков в растительной клетке, этот новый подход может быть применен при исследовании целевых белков в клетке у разных видов растений;

доказаны достоверные изменения в функциональной активности гетерологичной десатуразы в зависимости от ее локализации в растительной клетке и типа жирнокислотного состава растения;

представлены результаты, которые могут являться прикладной основой для создания хозяйственно-ценных растений, устойчивых к стрессовым воздействиям, и растений с измененным метаболизмом.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

исследование выполнено на высоком современном уровне, определяется значительным объемом экспериментального материала, применением адекватных приемов обработки и анализа полученных данных;

теоретическое предположение о приоритетной локализации гетерологичной десатуразы и ее функциональной активности построено на основе данных исследований клеточного механизма ее функционирования;

идея базируется на широком спектре современных литературных данных по тематике диссертации как отечественных, так и зарубежных;

использованы разнообразные современные материалы и методы исследования; критерии, выбранные для оценки, позволяют в полной мере описать взаимосвязи изучаемых явлений;

установлено отсутствие в диссертационной работе заимствованного материала без указания ссылок на их авторов.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, анализе полученных данных и представлении результатов для их публикации, оформлении текста диссертации и автореферата. Значительная часть экспериментальной работы выполнена соискателем самостоятельно. Соискатель непосредственно участвовал в получении генетических конструкций для проведения транзientной экспрессии и штаммов агробактерий, несущих целевые гены, и

в планировании и проведении экспериментов по выяснению локализации гетерологичной десатуразы в растительной клетке методами микроскопии. Сравнительный анализ жирнокислотного состава модельных растений выполнен соискателем лично. Соискатель самостоятельно проводил статистическую обработку и интерпретацию экспериментальных данных. Подготовку основных публикаций по выполненной работе соискатель проводил совместно с научным руководителем диссертационной работы.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи **и соответствует критерию** внутреннего единства, что подтверждается логичностью постановки задач исследования, последовательностью и завершенностью экспериментов, комплектностью полученных результатов и соответствием сформулированным выводам поставленным задачам.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что:

- соблюдены установленные Положением о присуждении ученых степеней критерии, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;
- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;
- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

На заседании 30 июня 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Берестовому Михаилу Алексеевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в

заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 13,
против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета
Д 006.027.01

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 006.027.01

30 июня 2020 г.



П.Н. Харченко

М.Р. Халилуев