

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.230.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ
МАТАНЦЕВОЙ ОЛЬГИ ВАЛЕРЬЕВНЫ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 02 марта 2018 года №230/408

О присуждении **МАТАНЦЕВОЙ ОЛЬГЕ ВАЛЕРЬЕВНЕ** (Россия) ученой степени
кандидата биологических наук

Диссертация **«КОНКУРЕНТНОЕ ПОГЛОЩЕНИЕ И АССИМИЛЯЦИЯ
ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И НИТРАТ-ИОНОВ КЛЕТКАМИ
ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ *PROROCENTRUM MINIMUM*»**

по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»

принята к защите 22.12.2017 г., протокол №229/407 Диссертационным советом
Д 002.230.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Институт цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН), адрес: 194064, Россия,
Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4, утвержден приказом Минобрнауки РФ № 105/нк
от 11.04.2012 г.

Соискатель Матанцева Ольга Валерьевна, 1988 года рождения, в 2011 году окончила
биологический факультет Университета Бремена, Германия, по специальности
«Биология» с присуждением степени магистра. С **21.12.2012** по **20.12.2016** проходила
соискательство в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт
цитологии Российской академии наук. Диссертация выполнена в порядке прохождения
соискательства.

С 2011 года работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Институт цитологии Российской академии наук в Лаборатории цитологии одноклеточных
организмов, с декабря 2013 года по настоящее время Ольга Валерьевна является младшим
научным сотрудником этой лаборатории.

Диссертация выполнена в Лаборатории цитологии одноклеточных организмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

Научный руководитель – Скарлато Сергей Орестович, доктор биологических наук (по специальности: 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»), главный научный сотрудник Лаборатории цитологии одноклеточных организмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1. Елена Валентиновна Сабанеева, кандидат биологических наук (по специальностям: 03.02.04 – «Зоология» и 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»), доцент кафедры цитологии и гистологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург;

2. Александр Олегович Фролов, доктор биологических наук (по специальности: 03.02.11 – «Паразитология»), главный научный сотрудник Лаборатории по изучению паразитических червей и протистов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург
дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (Санкт-Петербург) в своем положительном отзыве (заключение составлено заведующим Лабораторией биосистематики и цитологии, доктором биологических наук (специальности 03.02.07 – «Генетика» и 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»), профессором А.В. Родионовым и утверждено директором Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук, д.б.н. Д.В. Гельтманом) указала, что диссертационная работа является завершенным научным исследованием, выполненным на высоком теоретическом и экспериментальном уровне. Результаты работы обладают высокой научной актуальностью, новизной и потенциально имеют значительную практическую значимость. Работа удовлетворяет требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям,

представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»,

и
дала положительный отзыв на диссертацию.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ, из них по теме диссертации 14 - 6 статей (объемом 6,7 печ. листа) в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов кандидатских диссертаций, и 8 тезисов докладов на 3 российских и 5 международных конференциях. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных О.В. Матанцевой работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Матанцева О. В., Скарлато С. О. Миксотрофия у микроорганизмов: экологические и цитофизиологические аспекты. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2013. – Т. 49. – № 4. – С. 245–254.

В рамках данной статьи был проанализирован имеющийся на сегодняшний день в литературе материал о миксотрофном питании микроорганизмов. Результатом работы стало выявление пробелов в исследованиях данного явления с позиций клеточной биологии у экологически значимых групп одноклеточных эукариот, в которых миксотрофия широко распространена, в частности, у динофлагеллят.

2. Pozdnyakov, I., Matantseva O., Negulyaev Y., Skarlato S. Obtaining spheroplasts of armored dinoflagellates and first single-channel recordings of their ion channels using patch-clamping. Marine drugs. – 2014. – V. 12. – N. 9. – P. 4743–4755.

В данной статье показано, что действие механического стресса (центрифугирования) индуцирует экдизис у динофлагеллят *Prorocentrum minimum* и ведет к временной потере подвижности их клеток. Сделаны выводы об ограничениях в использовании центрифугирования при экспериментальной работе с данным видом динофлагеллят.

3. Matantseva O., Skarlato S. Current state and perspectives of single-cell studies in ecophysiology of protists. Protistology. – 2015. – V. 9. – N. 3/4. – P. 127–132.

В работе дан критический анализ современных исследований гетерогенности клеточных популяций протистов на уровне отдельных клеток, методических подходов к исследованию данного явления, а также возможных механизмов формирования гетерогенности.

4. **Matantseva O.**, Skarlato S., Vogts A., Pozdnyakov I., Liskow I., Schubert H., Voss M. Superposition of individual activities: urea-mediated suppression of nitrate uptake in the dinoflagellate *Prorocentrum minimum* revealed at the population and single-cell levels. *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – V. 7 – Article 1310.

Статья посвящена исследованию конкурентного поглощения мочевины и нитрат-ионов клетками динофлагеллят *Prorocentrum minimum* на уровне популяций и отдельных клеток. Сделан вывод о том, что привнесение мочевины в прибрежные экосистемы является фактором, играющим важную роль в иницировании и пролиферации цветений динофлагеллят. Также продемонстрировано, что популяции *Prorocentrum minimum* характеризуются существенной гетерогенностью в отношении поглощения питательных субстратов, что имеет значение для понимания их динамики в естественных экосистемах.

5. Бердиева М. А., Скарлато С. О., **Матанцева О. В.**, Поздняков И. А. Влияние механического стресса на ультраструктуру клеточных покровов динофлагеллят *Prorocentrum minimum*. *Цитология*. – 2016. – Т. 58. – №10. – С. 792–798.

В данной работе показано, что экдизис у динофлагеллят *Prorocentrum minimum* может быть индуцирован не только центрифугированием, но и вакуумной фильтрацией культуры. При этом даже центрифугирование с низкой скоростью (500g) и фильтрация под действием низкого давления (менее 100 мбар) вызывают немедленную реорганизацию клеточных покровов и ведут к временной потере подвижности клеток. Сделаны выводы об ограничениях в использовании центрифугирования и фильтрации при экспериментальной работе с данным видом динофлагеллят.

6. Pechkovskaya S. A., Matantseva O. V., Filatova N. A., Skarlato S. O., Telesh I. V. Molecular tools for invasion biology: a new approach for amplification of dinoflagellate nitrogen transport genes with unknown exon-intron structure. *Protistology*. – V. 11. – N. 3. – P. 135–142.

В работе обнаружены последовательности, кодирующие транспортеры нитрат-ионов и мочевины у динофлагеллят *Prorocentrum minimum*.

7. **Matantseva O.**, Pozdnyakov I., Voss M., The use of urea and glycine as C and N substrates by dinoflagellates. 15 th International Congress of Protistology : abstracts. – Prague, Czech Republic, 2017. – P. 342.

В данном исследовании показано разобшение ассимиляции азота и углерода мочевины и глицина у динофлагеллят *Prorocentrum minimum*. На основании анализа транскриптомных данных разобшение объяснено метаболическими трансформациями этих органических веществ в клетках.

8. **Матанцева О.** Роль мочевины и глицина как источников азота и углерода для динофлагеллят. Клеточная биология: проблемы и перспективы: тез. докл. конф. с международным участием. – СПб., 2017. – С. 92–93.

Работа посвящена изучению конкурентного поглощения органических веществ (мочевины и глицина) и нитрат-ионов клетками динофлагеллят *Prorocentrum minimum*.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Заведующей лабораторией алканотрофных микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, академика РАН, д.б.н., проф., акад.РАН **Ирины Борисовны Ившиной**. Отзыв положительный, без замечаний.
2. Главного научного сотрудника лаборатории экологической биохимии Института биологии – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», д.б.н., проф., чл.-корр. РАН **Нины Николаевны Немовой**. Отзыв положительный, без замечаний.
3. Главного ученого секретаря Дальневосточного отделения Российской академии наук, д.б.н., проф., чл.-корр. РАН **Виктора Всеволодовича Богатова**. Отзыв положительный, без замечаний.
4. Заведующего лабораторией пресноводной и экспериментальной гидробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Зоологический институт Российской академии наук, д.б.н., проф., чл.-корр. РАН **Сергея Михайловича Голубкова**. Отзыв положительный, без замечаний.
5. Заведующего лабораторией экспериментальной гидробиологии Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, д.б.н., проф. **Михаила Ивановича Гладышева** и старшего научного сотрудника лаборатории экспериментальной гидробиологии Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, к.б.н. **Елены Сергеевны Кравчук**. Отзыв положительный, без замечаний.
6. Проректора, профессора кафедры гидробиологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, д.б.н., проф. **Юрия Александровича Мазея**. Отзыв положительный, без замечаний.

7. Ведущего научного сотрудника лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, д.б.н. **Владимира Ивановича Попенко**. Отзыв положительный, без замечаний.

В дискуссии принимали участие:

1. Д.б.н. С.Ю. Хайтлина, член Диссертационного совета;
2. Д.б.н., проф. Я.Ю. Комиссарчик, гл. н. с. ИНЦ РАН;
3. Д.ф.-м.н. А.Л. Тимковский, член Диссертационного совета;
4. Д.б.н., проф. М.И. Мосевичкий, член Диссертационного совета.

Выбор официальный оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов в области клеточной биологии одноклеточных организмов для более объективной оценки результатов, представленных в диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция о конкурентном поглощении и ассимиляции органических веществ и неорганических ионов миксотрофными динофлагеллятами *Prorocentrum minimum*;

предложен оригинальный подход к изучению поглощения питательных субстратов динофлагеллятами на уровне популяций и отдельных клеток. Данный подход позволил выявить существенную гетерогенность популяций *P. minimum* в отношении поглощения ионов нитрата, бикарбоната и мочевины;

доказано, что транспорт азота мочевины и глицина в клетки динофлагеллят *Prorocentrum minimum* в два раза эффективнее конкурентного транспорта нитрат-ионов в условиях избыточного содержания азота в среде;

доказано, что скорость поглощения нитрат-ионов клетками *P. minimum* снижается в присутствии мочевины на 30–40%;

доказано, что во время миксотрофного роста *P. minimum* мочевина и глицин являются незначительными источниками углерода по сравнению с бикарбонат-ионами: углерод мочевины составляет не более 0.5%, а углерод глицина – не более 1.5% от общего углерода, ассимилированного клетками;

доказано, что динофлагелляты обладают гомологами белков, вовлеченных в транспорт и ассимиляцию ионов нитрата (NRT1.2, NRT2.1, нитрат- и нитритредуктаза),

мочевины (белки-аквапорины суперсемейства MIP, транспортеры DUR3, уреазы) и глицина (GLYT, CAT1, белки комплекса декарбоксилирования глицина, серингидроксиметилтрансфераза и сериндегидратаза).

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, вносящие вклад в расширение представлений о физиологии питания динофлагеллят и о гетерогенности популяций одноклеточных эукариот;

применительно к проблеме, изучаемой в диссертации, результативно использован комплекс современных методов клеточной биологии (микроскопия, мечение стабильными изотопами, масс-спектрометрия, масс-спектрометрия в наномасштабе), аналитической химии (определение концентрации ионов нитрата, аммония, бикарбоната, мочевины) биоинформатики (анализ баз данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, поиск гомологов, множественное выравнивание, предсказание вторичных структур).

изложены новые данные о конкурентном поглощении нитрат-ионов и органических веществ (мочевина и глицин) динофлагеллятами, а также о молекулярных основах транспорта и ассимиляции этих питательных субстратов;

раскрыто значение миксотрофного поглощения органических веществ фотосинтезирующими динофлагеллятами;

изучены фундаментальные аспекты миксотрофного питания динофлагеллят, имеющие большое значение для понимания физиологии этих организмов и функционирования морских экосистем.

охарактеризована роль растворенных органических веществ (мочевина и глицин) как источников азота и углерода для динофлагеллят *P. minimum*.

Значение полученных соискателем результатов для практики подтверждается тем, что:

создана экспериментальная и теоретическая база, на основе которой возможно дальнейшее изучение физиологии питания динофлагеллят;

определены перспективы практического применения результатов исследований физиологии питания динофлагеллят для целей рационального использования и охраны водных ресурсов;

представлены рекомендации по предсказанию и мониторингу цветений динофлагеллят в прибрежных экосистемах.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты, представленные в диссертации, получены на сертифицированном оборудовании; выбор использованных методов обоснован спецификой работы и

соответствует поставленным в работе задачам; достоверность экспериментальных результатов и результатов, полученных в ходе биоинформатических исследований, оценена с помощью адекватных методов статистической обработки данных;

теория построена на известных, проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными результатами по теме диссертации и по смежным отраслям;

идея базируется на анализе данных современной литературы, а также на обобщении и анализе собственного материала;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассмотренной тематике;

установлено, что авторские результаты согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение было обосновано;

Использованы современные экспериментальные подходы (микроскопия, анализ изотопных отношений при помощи масс-спектрометрии, масс-спектрометрия вторичных ионов в наномасштабе, анализ баз данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, множественное выравнивание последовательностей, предсказание вторичных структур, методы аналитической химии) и адекватные методы статистической обработки результатов.

Личный вклад соискателя состоит в:

непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, анализе и интерпретации данных, полученных с помощью современных методов клеточной биологии, аналитической химии и биоинформатики. Автор принимал непосредственное участие в апробации результатов исследований на отечественных и зарубежных научных конференциях, в подготовке и написании статей и тезисов по теме диссертации.

Диссертация, посвященная выявлению особенностей конкурентного поглощения органических веществ и нитрат-ионов, а также молекулярных основ транспорта и ассимиляции этих соединений динофлагеллятами *P. minimus*, является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием в области клеточной биологии, которое содержит решение научной задачи, имеющей большое значение для понимания физиологии и экологического значения миксотрофного питания динофлагеллят. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных О.В. Матанцевой работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Диссертационная работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых

степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года) по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

На заседании 02 марта 2018 г. Диссертационный совет принял решение присудить **Матанцевой Ольге Валерьевне** ученую степень **кандидата биологических наук** по специальности **03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»**.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве **17 человек**, из них **9 докторов по специальности** рассматриваемой диссертации, участвующих в заседании, из 24 человек, входящих в состав Совета, проголосовали:

«ЗА» – 17, «ПРОТИВ» – НЕТ, недействительных бюллетеней нет.

Зам. председателя

Диссертационного совета Д 002.230.01

на базе ИНЦ РАН,

доктор биологических наук, профессор



С.Н. Борхсениус

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 002.230.01

на базе ИНЦ РАН,

кандидат биологических наук

Е.В. Каминская

«05» марта 2018 г.