

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Матанцевой Ольги Валерьевны «Конкурентное поглощение и ассимиляция органических веществ и нитрат-ионов клетками динофлагеллят *Prorocentrum minimum*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.25 - клеточная биология, цитология, гистология.

Диссертационное исследование Ольги Валерьевны Матанцевой относится к одной из интереснейших областей современной биологии – экофизиологии микроорганизмов. В качестве модельного объекта выступают динофлагелляты, весьма своеобразная группа протистов, играющая важную роль в экологии прибрежных вод. Динофлагелляты, или панцирные жгутиконосцы, печально известны благодаря "красным приливам", вызванным обильным размножением этих одноклеточных эукариотических организмов. Из-за высокой токсичности ряда метаболитов динофлагеллят это явление оказывает неблагоприятное воздействие на экосистему в целом, наносит серьезный ущерб марекультурам и представляет опасность для человека. Будучи миксотрофами, динофлагелляты способны поглощать как неорганические, так и органические субстраты, что приводит к их особенно бурной пролиферации в условиях антропогенной эвтрофикации. В этой связи особое значение приобретают любые исследования, так или иначе затрагивающие вопросы метаболизма этих протистов. Несмотря на очевидную необходимость проведения подобных исследований, конкурентное поглощение органических и неорганических азотсодержащих соединений у динофлагеллят практически не изучено. Лабораторных экспериментов на монокультуре динофлагеллят в строго контролируемых условиях до сих пор не проводилось. Представленная к защите диссертационная работа есть не что иное, как одна из первых попыток восполнить этот пробел. Исходя из всего сказанного выше, актуальность поднятой в диссертации проблематики не вызывает сомнений.

Предвосхищая последовательный разбор представленной к защите работы, необходимо сразу отметить, что диссертация О.В. Матанцевой является результатом планомерного кропотливого труда, что не могло не сказаться на ее результатах и качестве. Сильнейшее впечатление производит высокий уровень примененных методов исследования, а саму работу отмечает систематичность и тщательный анализ полученных результатов. Работа очень интересно задумана, схема исследования логична, и каждый последующий шаг исследования органично вытекает из предыдущего. Можно с уверенностью утверждать, что работа выполнена в лучших традициях отечественной протистологии.

Основным достоинством работы О.В. Матанцевой является ее "многоуровневость", т.е. чрезвычайно удачное сочетание уникальных подходов, используемых в современной клеточной физиологии и применяемых к отдельным клеткам, с экспериментами, проводимыми на уровне клеточных популяций. Поэтому полученные диссертантом результаты существенны для решения проблем, выходящих далеко за рамки клеточной биологии, проблем экологических, а потому эти результаты имеют несомненное практическое значение. Вместе с тем проведенный биоинформатический анализ транскриптомов позволяет автору выйти на молекулярный уровень и обнаружить у динофлагеллят *Prorocentrum minimum* гомологи белков, обеспечивающих транспорт ионов нитрата, мочевины и глицина, и ферментов, осуществляющих отдельные этапы метаболизма этих веществ.

Диссертация написана в основном по традиционному плану и состоит из введения, 4 глав («Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение»), заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 242 наименования, а также приложения, содержащего дополнительные материалы, не вошедшие в основной текст. Тексту диссертации предшествует список использованных сокращений. Результаты работы полно и наглядно проиллюстрированы 24 рисунками и 5 таблицами в основном тексте диссертации и 7 рисунками и 5 таблицами в разделе "Приложение". По теме диссертации опубликовано 6 научных статей в отечественных и зарубежных рецензируемых изданиях из списка ВАК, которые полностью отражают содержание представленной работы.

Во введении автор убедительно аргументирует актуальность выбранной темы и четко формулирует цель и задачи исследования. Не остается сомнений в том, что и по самому замыслу исследования, и по примененным подходам диссертационную работу О.В. Матанцевой можно назвать пионерской.

Прекрасно структурированный обзор литературы охватывает широкий круг затронутых в работе проблем. Автор подробно излагает имеющиеся в литературе сведения относительно физиологии питания динофлагеллят и делает особый акцент на экологическом значении динофлагеллят в прибрежных водах, испытывающих сильную антропогенную эвтрофикацию. Этот раздел диссертации свидетельствует о прекрасной осведомленности автора относительно литературных данных по самым разнообразным аспектам проблемы, касающимся как миксотрофии динофлагеллят, так и молекулярных основ транспорта и ассимиляции нитрат-ионов, мочевины и глицина у различных групп эукариотических организмов. Следует особенно подчеркнуть новизну использованной диссертантом литературы; автор цитирует более десятка работ, опубликованных в 2016-

2017 годах и даже одну работу 2018 года. Необходимо отметить, что, несмотря на большое количество рассмотренных в обзоре вопросов, он достаточно компактен, и в нем нет ничего лишнего. Обзор литературы производит очень хорошее впечатление и говорит об умении автора тщательно анализировать современное состояние данной области науки.

В главе "Материалы и методы" автор приводит подробное описание схем экспериментов, примененных методик и алгоритмов вычислений. Отличительной чертой работы О.В. Матанцевой является удачное сочетание уже ставших традиционными методов исследования, таких как проточная цитометрия и масс-спектрометрия изотопных отношений, с такими новейшими методами современной клеточной биологии как масс-спектрометрия вторичных ионов в наномасштабе (NanoSIMS) и биоинформатический анализ транскриптомных баз данных. Высокий методический уровень работы, несомненно, способствовал блестящему решению поставленных задач. Статистический анализ полученных данных выполнен корректно, т.е. результаты исследования статистически достоверны.

Полученные автором результаты обладают несомненной научной новизной и представляют большой интерес для научного сообщества. Автору удалось показать, что в условиях избытка азота в среде у исследованного вида динофлагеллят мочевины и глицин транспортируются в клетки в два раза эффективнее, чем нитрат-ионы, т.е. органический субстрат оказывается намного предпочтительнее. Более того, в присутствии мочевины транспорт нитрат-ионов подавлен, т.е. динофлагелляты переключаются на гетеротрофное питание. Этот важнейший результат говорит о том, что антропогенная эвтрофикация прибрежных вод, вызванная сбросами органических азотсодержащих соединений, будет неизбежно способствовать массовой пролиферации панцирных жгутиконосцев. Интересно, что, несмотря на то, что мочевины и глицин выступают в качестве важных источников азота для динофлагеллят, входящий в их состав углерод плохо ассимилируется панцирными жгутиконосцами, т.е. ассимиляция этих химических элементов разобщена. Этот установленный автором факт, без сомнения, имеет большое значение для экологии.

В работе впервые применен метод масс-спектрометрии вторичных ионов в наномасштабе для изучения процессов поглощения и ассимиляции различных веществ отдельными клетками. Автор убедительно демонстрирует, что данные, полученные на отдельных клетках, в целом соответствуют данным, полученным на популяции клеток. Вместе с тем О.В. Матанцевой удалось выявить существенную гетерогенность популяции динофлагеллят в отношении процессов поглощения питательных субстратов. Эти данные

представляют особый интерес. Совершенно очевидно, что фактор гетерогенности популяции необходимо учитывать при экосистемном моделировании.

К бесспорной заслуге автора следует отнести биоинформатический анализ транскриптомов. На основании проведенного анализа автор не только предлагает обобщающую схему предположительных путей транспорта и ассимиляции нитрат-ионов, мочевины и глицина, но и проводит сравнение предсказанной структуры белков-транспортеров, аквапоринов и белков-каналов динофлагелляты *P. minimum* со структурой изученных в этом отношении гомологичных белков других организмов.

В разделе «Обсуждение результатов» автор исключительно корректно и всесторонне анализирует полученные данные. Особенно импонируют рассуждения автора о возможных причинах гетерогенности популяций динофлагеллят в отношении поглощения питательных субстратов.

Представленный автором иллюстративный материал заслуживает особой похвалы, причем последнее относится не только к наглядности приведенных графиков и рисунков-схем, но и к эксплицитным подписям. Стоит отдельно отметить общее оформление работы, которая отличается своей аккуратностью.

Принципиальных замечаний и возражений ни материалы диссертации, ни формулировка выводов не вызывают. Возникают лишь некоторые вопросы по тексту работы. Так, из обзора литературы осталось непонятно, что из себя представляют структуры педункулюм и паллиум и как они принимают участие в процессе фагоцитоза. Автор использовал в экспериментах поверхностную фракцию, содержащую активно плавающие клетки. Как, по мнению автора, сказалось бы на результатах работы включение в эксперимент клеток из донной фракции?

К достоинствам диссертации относятся легкий для восприятия язык, которым изложен материал, и практически полное отсутствие стилистических огрехов, что в настоящее время представляет собой большую редкость. Единственное замечание в этом отношении касается неудачного перевода с английского оборотов типа "участки интереса" и "последовательности запроса", которые можно было бы заменить соответственно выражениями "интересовавшие нас участки" и "последовательности, запрошенные в базах данных".

Указанные незначительные погрешности стиля несколько не влияют на общую высокую оценку работы. Научный труд О.В. Матанцевой поражает своей основательностью и глубиной. Постановка задачи, ее выполнение и трактовка результатов возражений не вызывают. Автором проделан огромный объем работы с использованием новейших методов исследования, адекватных поставленным задачам. Результаты

достоверны; они грамотно и корректно обсуждены. Выводы обоснованы и соответствуют представленному материалу.

На основании всего вышеизложенного можно с уверенностью заключить, что диссертационная работа О.В. Матанцевой «Конкурентное поглощение и ассимиляция органических веществ и нитрат-ионов клетками динофлагеллят *Prorocentrum minimum*» по актуальности проблемы, объему представленного материала и новизне полученных результатов, безусловно, удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Доцент кафедры цитологии и гистологии

биологического факультета

Санкт-Петербургского государственного университета

кандидат биологических наук

Е.В.Сабанеева

12 февраля 2018

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

Е.В. Сабанеевой

ЗАВЕРЯЮ



Заместитель начальника
Управления кадров СПбГУ
Н.К. КОРЕЛЬСКАЯ