

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Геном дикранума секвенирован?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Почему выбрали этот мох с несеквенированным геномом в качестве объекта исследования?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Есть ли особенности пероксидаз у дикранума или они являются классическими для мхов?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Технический вопрос: в филогенетическом древе у Вас только 8 пероксидаз, а должно быть 22, где остальные? Что мешало построить филогению для всех?

к.б.н. Федина Е.О.: Вы не сталкивались с внеклеточными пероксидазами? Что можете рассказать про них?

д.х.н., академик РАН Гречкин А.Н.: У Вас на двух иллюстрациях показаны третичные структуры белков. На что Вы опирались при построении моделей?

д.х.н., академик РАН Гречкин А.Н.: Какую степень гомологии имеют эти модели по отношению к Вашим пероксидазам?

д.х.н., академик РАН Гречкин А.Н.: Какой процент схожести с референсным белком?

к.б.н. Пономарева А.А.: Рекомендую добавить слайд, отражающий детали эксперимента.

к.б.н. Федина Е.О.: Каков личный вклад диссертанта в работу?

к.б.н. Федина Е.О.: Где список публикаций, опубликованных по диссертационной работе?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Зачем в работе белковая часть? Есть ли какая-то стыковка между белками и генами в работе?

к.б.н. Микшина П.В.: Методика фракционирования, использованная в Вашей работе, общепринятая? Необходимо дать ссылку на методику.

д.х.н., академик РАН Гречкин А.Н.: *Physcomitrium patens* или *Physcomitrella patens*?

д.х.н., академик РАН Гречкин А.Н.: Филогенетическое древо или дерево?

д.х.н., академик РАН Гречкин А.Н.: Метилжасмонат у мхов не обнаружен.

д.х.н., академик РАН Гречкин А.Н.: Обмен АФК – очень сложный много компонентный, много факторный процесс, он не может определяться только активностью пероксидаз. Надо обсуждать этот вопрос очень деликатно.

Соискатель дал исчерпывающие ответы на все вопросы.

С рецензией на работу выступил к.б.н. Горшков В.Ю.

Диссертационная работа Онеле А.О. посвящена анализу пероксидаз мха *Dicranum scoparium*. В процессе исследования проанализирована пероксидазная активность при обезвоживании и регидратации исследуемого мха. Проведено сравнение пероксидаз в разных фракциях. Проведено биоинформатическое предсказание генов, кодирующих пероксидазы, в том числе определение нуклеотидной последовательности гена аскорбатпероксидазы. Диссертационная работа соответствует специальности физиология и биохимия растений и, в целом, создает благоприятное впечатление.

Работа построена по классическому принципу. Обзор литературы представлен достаточно полно. В этом разделе собрана информация об адаптивных механизмах мхов, подробно рассмотрены вопросы, связанные с образованием АФК, окислительным стрессом и регуляторной ролью АФК. Отдельный раздел посвящен структуре пероксидаз и кодирующих их генов. Экспериментальная часть работы начинается с описания объекта исследования и использованных методов. Для достижения поставленных задач автором применялся широкий круг классических и современных методов биохимии и молекулярной биологии. В качестве объекта исследования удачно подобран модельный объект - мох, способный выдерживать дегидратацию и в дальнейшем регидратацию.

К изложению диссертационной работы имеется ряд замечаний. Диссертанту необходимо поработать над формулировками цели и задач. Например, третья задача по идентификации генов пероксидаз слишком подробно изложена. В качестве замечания к обзору литературы хочется отметить стиль изложения материала: многие фразы построены «не по-русски», используется английская аббревиатура. Некоторые заглавия можно было бы расширить, например гл. 1.1. *Dicranum scoparium*, - вероятно, речь идет о ботаническом описании. В работе есть ряд терминологических неточностей, например, вызывает сомнение словосочетание: «гомеостаз тяжелых металлов». Подписи некоторых рисунков составлены на английском языке.

Есть замечания к изложению экспериментальной части работы. Например, при описании фракционирования белков клеточной стенки не приводится информация, в каких экспериментах какие фракции были проанализированы. При описании определения нуклеотидных последовательностей указано, что проводили ПЦР; в действительности это реакция Сенгера, а не ПЦР. Больше всего замечаний касается раздела результат и обсуждение. Не всегда можно сразу понять логику того или иного эксперимента. Не во всех разделах понятно, какая фракция проанализирована. Стиль изложения требует доработки. Нет описания некоторых экспериментов: например, эксперимента, результаты которого представлены в таблице 1.

Выводы также требуют доработки: второй вывод и вторая задача разнородны, а первый вывод не совсем корректен, так как идентификация гена предполагает получение рекомбинантного фермента. На некоторые задачи нет выводов, например, «определить изоферментный состав пероксидаз I и III класса в *D. scoparium* и активность ферментов».

Практическая значимость диссертационной работы Онеле А.О. заключается в том, что результаты работы могут служить теоретической основой для фундаментальных исследований по выявлению механизмов устойчивости растений к различным стрессовым факторам, а также методологической основой для прикладных работ по экологическому мониторингу и мероприятиям по повышению устойчивости сельскохозяйственных растений.

Личный вклад соискателя. Автором диссертационной работы проведен анализ данных литературы, выполнена большая экспериментальная работа. Автор принимал личное участие в планировании и проведении экспериментальной работы, в статистической обработке, анализе, интерпретации и обсуждении полученных результатов. Онеле А.О. является автором трех статей в журналах, рекомендуемых ВАК, а также материалов трудов научных конференций.

После устранения недостатков, отраженных в рецензии к.б.н. Горшкова В.Ю., по итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Онеле А.О. «Биохимические и молекулярные особенности пероксидаз мха *Dicranum scoparium* Hedw.» соответствует пунктам паспорта специальности 1.5.21 – «Физиология и биохимия растений»:

2. Особенности организации генома растений. Регуляция его экспрессии.
 5. Ответ растений на внешние воздействия, адаптация и устойчивость к абиогенным факторам окружающей среды.
- Отрасль наук: биологические науки.

В диссертации автор ссылается на собственные опубликованные данные. В тексте диссертации отсутствуют материалы без ссылки на автора или источники заимствования.

По материалам диссертации опубликованы тезисы 14 докладов на международных и всероссийских конференциях и 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций:


1. **Onele, A.O.** Biochemical characterization of peroxidases from the moss *Dicranum scoparium* [Text] / A.O. Onele, A. Chasov, L. Viktorova, R.P. Beckett, T. Trifonova, F. Minibayeva // South African Journal of Botany – 2018 – V.119 – P.132–141.
2. **Онеле, А.О.** Аскорбатпероксидаза мха *Dicranum scoparium*: идентификация гена, активность фермента [Текст] / А.О. Онеле, А.В. Часов, Т.В. Трифонова, Ф.В. Минибаева // Доклады академии наук, Биохимия, биофизика, молекулярная биология – 2019 – Т.489 – С.92–96.
3. **Onele, A.O.** Characterization and expression analysis of ascorbate peroxidase from the moss *Dicranum scoparium* during abiotic stresses [Text] / A.O. Onele, A.V. Chasov, L.V. Viktorova, F.V. Minibayeva, R.P. Beckett // Bryologist – 2021 – V.124 – P.68–84.

Расширенный научный семинар отделов Клеточной сигнализации, Физиологии и молекулярной биологии растений и Медико-биологических исследований КИББ ФИЦ КазНЦ РАН считает, что по актуальности, научной и практической значимости, достоверности полученных результатов, объёму, целостности и законченности диссертационная работа Онеле Алфред Обинна «Биохимические и молекулярные особенности пероксидаз мха *Dicranum scoparium* Hedw.» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.21 – «Физиология и биохимия растений».


Расширенный научный семинар отделов Клеточной сигнализации, Физиологии и молекулярной биологии растений и Медико-биологических исследований (протокол № 2 от 05.10.2021 г.) рекомендовал Ученому совету выдать Заключение по диссертационной работе Онеле А.О. Присутствовали: 33 человек. Итоги голосования: «за»- 33 чел., «против»- нет, «воздержались» - нет.

Заключение рекомендовано к утверждению на заседании Ученого совета КИББ ФИЦ КазНЦ РАН принято на заседании (протокол № 8 от 11.10.2021г.). Из 13 членов списочного состава Ученого совета присутствовали 13 человек. Рекомендации и замечания, высказанные на научном семинаре, соискателем учтены, и соответствующие изменения внесены в текст диссертации. Итоги голосования: «за»- 13 чел., «против»- нет, «воздержались» - нет.

Руководитель КИББ
ФИЦ КазНЦ РАН
д.б.н., профессор


Чернов В.М.


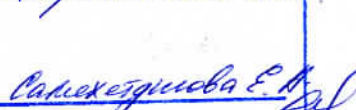
Председатель расширенного научного семинара
КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, к.б.н.


Микшина П.В.

Ученый секретарь
КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, к.б.н.


Карпилова И.Ю.



Подпись	
ЗАВЕРЯЮ	
НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА ПРОТОКОЛА И ДЕЛОПРОИЗВОДСТВА	« 18 » октября 2021 г.