

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Романчук Світлани Миколаївни**: «Експресія гена β -глюкозидази та ультраструктура тілець ендоплазматичного ретикулуму в клітинах кореня *Arabidopsis thaliana* під впливом кліноостатування та іонізуючої радіації», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 - цитологія, клітинна біологія, гістологія

Актуальність теми дисертації.

В роботах останніх десятиліть встановлено основні закономірності впливу мікрогравітації на морфогенез, просторову орієнтацію та полярність органогенезу, фізіологію базових функцій та метаболізму, експресію генів, репродуктивну здатність рослин, тощо. Пристосування до умов мікрогравітації відбувається за рахунок формування багаторівневих регуляторних зв'язків, сигналіngu, модифікації експресії генів, змін у метаболізмі, тощо. На ультраструктурному рівні досить детально вивчено вплив мікрогравітації на структурну та функціональну організацію цитоплазматичних органел, зокрема мітохондрій, хлоропластів, вакуолей спеціалізованих та не спеціалізованих до сприйняття гравітаційного стимулу клітин. Проте, недостатньо з'ясованим залишається питання щодо впливу мікрогравітації на ендоплазматичний ретикулум, в компартментах якого здійснюється біосинтез, метаболізм, транспорт і просторовий розподіл багатьох білків, ліпідів, вуглеводнів та їх похідних. На особливу увагу заслуговують похідні ендоплазматичного ретикулуму в родини Brassicaceae, так звані, ER-тілця, які беруть участь у відповідях клітин на стрес, здійснюючи певну захисну функцію, завдяки наявності в них β -глюкозидази. Між тим, залишається нез'ясованою конкретна адаптивна функція цього унікального клітинного компартменту в механізмах радіостійкості та інших реакціях на дію різних стресових чинників. Враховуючи вищевказане, тему дисертації Романчук Світлани Миколаївни слід визнати безумовно актуальною.

Робота є складовою наукової проблеми, яка послідовно розробляється у відділі клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України під керівництвом члена-кореспондента НАН України, д. б. н. Кордюм Єлизавети Львівни.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота Романчук С.М. виконувалась у рамках фундаментальних науково-дослідних робіт відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України за темами: № ДР 0108U009552 «Проведення перспективних наукових досліджень з клітинної біології та мікрогравітації» – 2008–2012 рр.; № ДР 00112U004176 «Дослідження біологічної дії мікрогравітації на мембранному та клітинному рівнях («Біолабораторія–М»)» – 2012–2013 рр.; № ДР 00113U002585 «Дослідження впливу мікрогравітації на фізико-хімічні властивості цитоплазматичної мембрани рослинних клітин (МЕМБРАНА)» – 2014 р.; № ДР 0115U002737 «Фізико-хімічні властивості біомембран рослинних клітин в умовах мікрогравітації: цитоплазматична та енергетичні мембрани» – 2015–2016 рр.

Новизна дослідження та одержаних результатів.

В результаті комплексного дослідження ЕР-тілець в корневих апексах проростків *Arabidopsis thaliana* під впливом модельованої мікрогравітації та іонізуючої радіації отримано нові дані щодо участі цього унікального клітинного компартменту видів родини Brassicaceae в реакціях рослинних клітин на дію цих чинників.

Дисертантом отримано нові докази участі ЕР-тілець у відповідях клітин кореня *A. thaliana* на вплив модельованої мікрогравітації (кліностатування) та іонізуючої радіації (Х-опромінення). Встановлено, що за умов кліностатування та опромінення збільшується кількість та площа ЕР-тілець та зростає варіабельність їхньої форми і розмірів у клітинах кореневого чохла та ДЗР. Вперше показано, що кліностатування призводить до посилення в проростках експресії гена *РУК10*, що кодує β-глюкозидазу ЕР-

тілець, проте не впливає на загальну активність цього ферменту. Вперше визначено, що X-опромінення в діапазоні малих та напівлегальних для *A. thaliana* доз викликає швидко тимчасову дозо-залежну активацію експресії гена *PYK10* та посилення загальної активності β -глюкозидази, що може бути використано для розробки молекулярного маркера впливу іонізуючої радіації. Посилене формування ER-тілець та активація експресії гена відповідної β -глюкозидази за впливу як кліноостатування, так і опромінення вказує на їх участь у захисній реакції клітин на зовнішні чинники різної природи. Одержані дані вперше доводять участь ER-тілець як похідних гранулярного ендоплазматичного ретикулуму в реакціях проростків *A. thaliana* на дію основних факторів космічного польоту – мікрогравітації та іонізуючої радіації.

Новизна отриманих даних підтверджується публікаціями дисертанта у фахових журналах.

Практичне значення результатів досліджень. Проблема, яку досліджує дисертант, є актуальною, а одержані дані вносять вагомий вклад у розуміння механізмів адаптації за умов космічного польоту. Одержані дані доповнюють та поглиблюють існуючі уявлення про клітинні механізми адаптації рослин до умов модельованої, реальної мікрогравітації та іонізуючої радіації, а також можуть використовуватися для вирішення прикладних завдань космічної біології рослин. Враховуючи те, що ER-тілець є характерною рисою представників родини Brassicaceae, цінність отриманих для *A. thaliana* даних поширюється на багато овочевих культур з цієї родини, які пропонуються для вирощування в біорегенеративних системах життєзабезпечення. Встановлені дисертантом закономірності відкривають нові підходи до планування та проведення космічних і наземних експериментів щодо тестування стійкості цих овочевих культур до умов космічного польоту. Результати досліджень також можуть бути впроваджені у навчальний процес при підготовці спеціалістів із космічної біології, клітинної біології та екології рослин.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Обґрунтоване планування, вибір ідеї та напрямку експериментального її вирішення, досконале володіння різними сучасними методами клітинної біології – цитологічними, фізіологічними, молекулярно-генетичними – дозволили дисертанту виконати всі поставлені завдання і одержати великий обсяг оригінального експериментального матеріалу, який послідовно викладений у 4 розділах власних досліджень (4-7 розділи). Отримані дані підтверджено 13 таблицями та 37 рисунками. Текст дисертації викладено чітко та в логічній послідовності. Достовірність результатів забезпечено значним обсягом експериментального матеріалу та його статистичною обробкою. Висновки відповідають отриманим експериментальним даним. Автореферат відображує зміст дисертації.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. Матеріали дисертації повністю представлені в опублікованих працях автора. Отримані результати опубліковані в 31 науковій праці, з яких 8 статей (у фахових українських і зарубіжних виданнях) та 23 тез доповідей. Матеріали дисертаційної роботи пройшли апробацію на конференціях, симпозіумах та з'їздах різного рівня, в тому числі, і міжнародних.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною роботою здобувача. Спільно з науковим керівником було означено проблему, обрано тему дисертації, розроблено її концепцію та структуру, визначено експериментальні завдання для вирішення проблеми. Здобувачем проведено пошук й аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури за обраною тематикою, виконано експериментальну частину роботи, здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих даних. Більшість статей та тез, підготовлених автором, є одноосібними.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення.

При високій позитивній оцінці роботи, у мене є ряд загальних та технічних зауважень:

1. В анотації, с.7, авторефераті с.15, тексті дисертації с. 131: «Підвищення експресії гена *PYK10* під впливом кліностагування дозволяє віднести його до групи генів, які змінюють експресію у відповідь на дію абіотичних стресів, в тому числі мікрогравітацію, тобто є гравічутливими...». Оскільки зміна експресії цього гена відбувається у відповідь на дію багатьох абіотичних факторів, зокрема тих, що знижують тургор клітини, ця ознака є неспецифічною та навряд чи її можна віднести до гравічутливих.

2. С.7: «Індукція гена *PYK10* і активація ферменту β -глюкозидази під впливом X-опромінення, на нашу думку, може використовуватись як молекулярний маркер впливу іонізуючої радіації.» Мова може йти тільки про активність ферменту, але й для такого висновку ще недостатньо даних. Гіперсекрецію ЕР та β -глюкозидази можна розглядати як маркер зростання автолітичної активності клітин, які підлягають швидкій заміні.

3. С.7: «Посилення активності β -глюкозидази тільки в опроміненних проростків вказує на специфічність їхньої реакції на дію X-променів, а саме підвищення метаболізму,...» – точніше вказати, метаболізму, пов'язаного з клітинною стінкою.

4. С.120: Нелінійний характер зростання експресії гена *PYK10* за умов різнодозового опромінення може бути обумовлений, як відмічала авторка, з існуванням певних порогових значень пошкодження ДНК, але, скоріше, він пояснюється гетерогенністю клітинних популяцій апекса кореня, які відрізняються своєю радіочутливістю.

5. С.131: «З джерел літератури відомо, що космічна радіація впливає на експресію генів та структуру геному в цілому через пошкодження ДНК та появу мутацій...». Щодо експресії генів, то радіація впливає не тільки через пошкодження ДНК; але, в цілому, на регуляторному рівні, в тому числі, через епігенетичну регуляцію геному.

Так, при дії гострого опромінення спостерігається швидке деметилювання ДНК.

З технічних зауважень:

В тексті дисертації зрідка, але зустрічаються синтаксичні та технічні помилки. У списку публікацій для одноосібних статей не має потреби вказувати внесок автора. У Перелік умовних позначень не має треба вносити загальновідомі скорочення. Хоча більшість рисунків досить гарної якості, але на деяких з них (рис. 5.4 та ін.) погано вирізняються дрібні структури, зокрема ГЕР, ЕР та диктіосоми.

Але вказані зауваження не мають принципового значення та не знижують наукової цінності роботи.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня кандидата біологічних наук.

Дисертаційна робота Романчук Світлани Миколаївни: «Експресія гена β -глюкозидази та ультраструктура тілець ендоплазматичного ретикулулу в клітинах кореня *Arabidopsis thaliana* під впливом кліностатування та іонізуючої радіації» є завершеним оригінальним дослідженням, яке виконано з використанням сучасних методів дослідження. Робота має як теоретичне, так і практичне значення. За обсягом експериментального матеріалу, науково-теоретичною цінністю основних результатів і висновків дисертація Романчук Світлани Миколаївни повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 - цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Пров. н. с. від. геноміки та
молекулярної біотехнології
ДУ «Інститут харчової біотехнології
та геноміки НАН України», д.б.н.

14 червня 2020 р.

