

ОТЗЫВ
официального оппонента
на диссертацию Светланы Владимировны Трусовой
«Механизм интернализации апоптотической протеазы растений»,
представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.01.08 – «биоинженерия»

В диссертации С. В. Трусовой изучен механизм возврата фитаспазы – растительной сериновой субтилизин-подобной протеиназы – из апопласта, куда фермент поступает сразу после синтеза, в цитоплазму клетки при стрессе, вызывающем программируемую гибель клетки (ПКС). Тема исследований весьма актуальна для современной молекулярной биологии высших растений, поскольку фитаспазы, не будучи ортологами классических каспаз животных, работают сходным образом. Фитаспазная активность связана с ПКС и существенна для защитных реакций растений против патогенов и стрессов. Можно сказать, что рецензируемая диссертация не только актуальна (это отдает некоторым формализмом), но весьма интересна; это обстоятельство, гораздо более существенное, располагает к диссертационной работе.

В диссертации С. В. Трусовой решены следующие задачи: изучен механизм возврата (интернализации) фитаспазы из апопласта растений в цитоплазму; установлено, что при индукции антимицином А окислительного стресса в листьях *Nicotiana benthamiana* и *Arabidopsis thaliana* возврат фермента осуществляется при помощи кватрин-зависимого эндоцитоза; показано, что этот процесс избирателен в отношении фитаспазы; продемонстрирована

корреляция между возвратом фитаспазы в цитоплазму клетки и развитием ПКС. Эти данные, полученные автором впервые, существенно дополняют картину перемещения и функционирования фитаспазы.

Диссертация оформлена по привычной схеме и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы (123 источника). Эти разделы написаны хорошим языком и внимательно вычитаны, что редкость в кандидатских диссертациях последних лет.

Обзор включает главы, посвященные участию субтилаз растений в стрессах и запрограммированной гибели клеток, строению субтилаз, фитаспазе и ее роли в развитии ПКС. Обзор хорошо написан и добротно иллюстрирован. Глава, посвященная результатам С. В. Трусовой и их обсуждению, не вызывает никаких вопросов. Применявшиеся автором методы вполне адекватны поставленным задачам. В работе показано, что фитаспаза переходит в апопласт, а в условиях антибиотикового стресса и развития признаков ПКС специфично возвращается в цитоплазму. В основе реэкспорта очевидно лежит механизм клатрин-зависимого эндоцитоза. Эти результаты получены впервые и вполне убедительны.

По содержанию диссертационной работы есть некоторые критические замечания.

В обзоре была бы уместна короткая глава про каспазы животных, которая подвела бы читателя к проблеме ПКС в растениях и фитаспазам. То, каким образом осуществляется движение белков из клетки в апопласт и обратно, следовало бы также рассмотреть в

отдельной главе обзора литературы - объем диссертации не чрезмерен и вполне бы позволил это сделать.

Отсутствует ссылка на заметный свежий обзор по ПКС в растениях Dickman и коллег (2017, *Nature Plants*). Если автор не принимает мнений авторов этой статьи, было бы интересно прочитать об этом в диссертации. Рисунок 5 показывает фотографию проростков арабидопсиса в контроле и при солевом стрессе. Это авторская иллюстрация или взятая из литературы? В любом случае, была бы уместна ссылка в подписи к рисунку.

Термин «интернализация» не кажется удачным. Перемещение фермента из апопласта в цитоплазму клетки можно было бы назвать «возвратом» или «реэкспортом». Это стоило сделать хотя бы в заглавии, а дальше применять слово «интернализация», если это слово показалось диссидентанту удачным. Справедливости ради стоит отметить, что автор так и делает, объясняя транспорт фитаспазы во Введении и далее в тексте. Слово "транзиентный" уже укоренилось в русском научном языке, и бороться с ним бессмысленно. Тем не менее, его вполне можно заменить словами "краткосрочный" или "кратковременный". Вместо "детектировать" вполне можно написать "обнаружить", читатель поймет. Следует отметить, впрочем, еще раз, что работа С.В. Трусовой хорошо написана и содержит небольшое количество англицизмов, чем выгодно отличается от многих современных диссертаций.

Термин «программированная клеточная смерть» следовало бы заменить на «запрограммированная (программируемая) гибель клеток» (или «клеточная смерть», если хотелось сохранить несколько готический оттенок названия).

Обзорный раздел и результаты и обсуждение идут под номерами, но не обозначены в оглавлении и в тексте как «Обзор литературы» и «Результаты и обсуждение». Это допустимо, но вряд ли удачно, тем более что раздел 2 несет привычное название "Материалы и методы". Раздел 3.6 назван неудачно - "Фитаспаза арабидопсиса ведет себя аналогично в проростках арабидопсиса"; название должно быть "говорящим" и не требовать от читателя поиска по предыдущему тексту, "аналогично чему" ведёт себя фермент в данном виде растений.

Выводы диссертации сформулированы четко и полностью отражают полученные результаты.

Содержание диссертационной работы представлено в 4 научных статьях, опубликованных в международных рецензируемых научных журналах с высоким рейтингом. С.В. Трусова является первым автором в двух наиболее весомых публикациях.

Сделанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.08 – «Биоинженерия» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова, а также оформлена согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

У меня нет сомнений, что С.В. Трусова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.08 – «Биоинженерия».

Официальный оппонент:
доктор биологических наук, профессор
заведующий сектором молекулярной вирусологии
кафедры вирусологии
Биологического факультета Московского государственного
университета им. М. В. Ломоносова

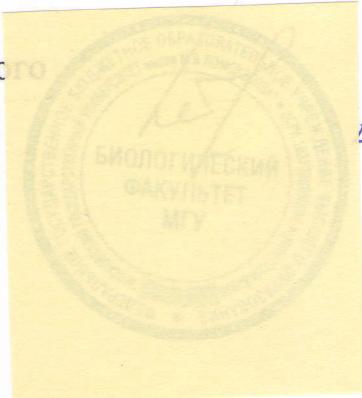
Алексей Анатольевич Аграновский

22.11.2019

Контактные данные:
Тел. 8(495)9392363, email aaa@genebee.msu.su
Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация:
03.01.03 – «молекулярная биология»

Адрес места работы:
119234 Москва, Ленинские горы д. 1, стр.12
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»
Тел. 8(495)9392776; email info@mail.bio.msu.ru

Подпись сотрудника А. А. Аграновского
удостоверяю:



ЕВ Нетле