

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Панкратенко Анны Владимировны на тему: «Изучение свойств и функций белка табака, эволюционно родственного белку VAR31 человека» по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология»

Развитие научных представлений о механизмах ответа растений на атаку патогенов и различные факторы окружающей среды, а также о регуляции этих механизмов неразрывно связано с исследованием белков, задействованных в этих процессах, и репертуара их взаимодействий на молекулярном и клеточном уровне. Малоизученным с этой точки зрения является специфичный для растений белок 4/1, изначально описанный как партнер транспортного белка тосповируса кольцевой гнилости томатов, и, по всей видимости, участвующий в регуляции дальнего транспорта, а также реакциях на различные биотические и абиотические стрессы. Диссертационная работа Анны Владимировны Панкратенко посвящена поиску, идентификации и исследованию свойств его белка-партнера. В ходе исследования было обнаружено, что данный белок, названный PVL, структурно гомологичен белку VAR31 млекопитающих, который играет важную роль в процессах сортировки, транспорта и деградации белков, программируемой клеточной гибели, а также образовании мембранных контактов между митохондрией и эндоплазматическим ретикуломом. Многие в этой области биологии растений до сих пор остаются неясными; в связи с этим тема диссертационного исследования представляется весьма актуальной.

Диссертационная работа построена по обычному плану и содержит разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список

сокращений» и «Список литературы», который включает в себя 186 источников. Работа содержит 1 таблицу и 21 рисунок.

Во «Введении» определены основные цели и задачи работы и аргументированы ее актуальность и новизна. Первая часть раздела «Обзор литературы» посвящен истории и современному состоянию вопросов, связанных с исследованиями белка VAR31, его строению, функциям и др. Вторая же часть – плазмодесмам и процессам, протекающим в зонах мембранных контактов (МК). Из материалов, изложенных в этом разделе, логически вытекают цели и задачи проведенных автором экспериментальных работ.

Методическая часть диссертации, представленная в разделе «Материалы и методы», содержит большое количество различных методов, использованных автором в проделанной работе. Ряд представленных методов изложен недостаточно подробно, однако в нем приведены все ключевые ссылки, что, при необходимости, должно позволить воспроизвести описанные эксперименты, не прибегая к поиску дополнительных источников.

Результаты проведенных исследований изложены достаточно четко и сделанные выводы соответствуют полученным данным. Первой задачей диссертационной работы являлась идентификация белка, потенциально являющегося партнером белка 4/1 *Nicotiana tabacum*. Для этого были получены генно-инженерные конструкции на основе последовательности белка Nt-4/1 и проведен скрининг в дрожжевой двугибридной системе. Результаты указали, что наиболее эффективное взаимодействие демонстрировал ранее неописанный белок *Nicotiana benthamiana*, по своей последовательности схожий с белком VAR31 млекопитающих и названный PBL. Анализ показал, что идентифицированный белок практически идентичен своему гомологу *Nicotiana tabacum*, и в дальнейших исследованиях автор сфокусировался на изучении свойств белка PBL табака.

Исходя из структурного сходства белков NtPBL и VAR31, было выдвинуто предположение о локализации исследуемого белка в системе внутриклеточных мембран, которое автор подтвердила и раскрыла в экспериментах по ко-экспрессии NtPBL с различными маркерами субклеточных компартментов, основываясь на методе конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. С использованием этого же метода, а также поверхностного плазмонного резонанса было убедительно показано, что NtPBL действительно с высокой афинностью взаимодействует с белком Nt-4/1. Это указывает на новые перспективы в исследованиях роли эндоплазматического ретикула в развитии вирусных инфекций на клеточном уровне.

Интерес представляет и вторая часть диссертационной работы, посвященная обнаруженным РНК-связывающим свойствам белка NtPBL, способности, нехарактерной для его гомолога у млекопитающих. Ряд экспериментов демонстрирует, что белок с высокой афинностью связывает микроРНК, что поднимает вопросы о его участии в регуляторных процессах на клеточном и организменном уровне. На это указывают и полученные в ходе работы данные о влиянии вирус-опосредованной экспрессии белка на рост и развитие растений. Выполненное картирование областей, участвующих в связывании, является первым шагом более подробных и обстоятельных исследований в этом направлении.

Сказанное позволяет заключить, что представленные в диссертационной работе результаты исследований проведены на современном экспериментальном уровне с использованием широкого круга методов молекулярной биологии, биохимии, биоинформатики и др. Выводы работы обоснованы и соответствуют полученным данным, результаты работы опубликованы в 3 статьях в международных рецензируемых журналах. Материалы работы представлены на 4 международных и российских конференциях, ссылки на которые в автореферате не приведены.

В ходе проведенных исследований был получен ряд принципиально новых данных, указывающих на новизну и научно-практическую значимость работы в целом. В частности, впервые был описан белок NtPBL, его свойства и локализация в эндоплазматической системе клетки, преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме. Судя по полученным результатам, настоящая работа открывает новые перспективы в исследованиях регуляторных функций микроРНК в растительных клетках, механизмов развития вирусной инфекции, роли эндоплазматического ретикулума в этих процессах. Данные, полученные в ходе диссертационного исследования Панкратенко А.В., дополняют представления о молекулярной биологии растений и могут быть использованы в фундаментальных исследованиях в области фитовирусологии, физиологии растений и др.

В целом диссертация хорошо написана, сделанные выводы обоснованы, однако есть ряд замечаний. В работе встречается небольшое количество опечаток. Хотелось бы так же отметить некоторую перегруженность текста литературного обзора. Автор склонен употреблять длинные развернутые предложения. Разделение их на несколько простых облегчило бы восприятие текста. Следует отметить и то обстоятельство, что выравнивание С-концевая последовательность аминокислот белка NtPBL было представлено только с белком HsVAP31, в то время как аналог этого белка найден во многих живых системах. Более широкое сравнение всех известных аналогов позволило бы представить полученные результаты и обсудить их на существенно более значимом уровне. Не совсем понятно, для чего при выравнивании С-концевых участков белков PBL разных растений использованы обозначающие аминокислоты буквы разного цвета и размера (Рис. 15). Такая картина, на мой взгляд, затрудняет четкость восприятия приведенного выравнивания. Вместе с тем совершенно очевидно, что указанные замечания не снижают ценности и актуальности представленной работы, а лишь вызывают определенное сожаление.

Таким образом, представленная диссертационная работа отвечает всем требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология», 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. Сказанное выше позволяет заключить, что соискатель А.В. Панкратенко заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология».

Официальный оппонент: доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель Отдела молекулярной биологии и биотехнологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской Академии Наук Сергей Кириакович Завриев.

28 августа 2020 г.

Контактные данные:

тел.: +7 (495) 995-55-57*2044, e-mail: szavriev@ibch.ru.

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена докторская диссертация: 03.01.03 – Молекулярная биология

Адрес места работы:

117997, Москва, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской Академии Наук.

Тел.: +7(495)335-01-00, e-mail: office@ibch.ru.

Подпись сотрудника ФГБУН «Институт биорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН Завриева С.К. удостоверяю:

Ученый секретарь ИБХ РАН

проф. В.А. Олейников

