

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора Алексея Анатольевича Аграновского на диссертацию Анастасии Васильевны Балакиревой «Протеиназы пшеницы и их активация в норме и при биотическом стрессе», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология»

В диссертации А.В. Балакиревой изучена совокупность протеиназ пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и их активация при нормальных условиях и при биотическом стрессе, вызываемом грибковыми патогенами. Тема исследований весьма актуальна для современной молекулярной биологии высших растений, поскольку протеиназы пшеницы (культуры, экономическая важность которой вряд ли нуждается в обосновании) изучены неполно. Вместе с тем, эти ферменты очень существенны для защитных реакций растений против патогенов и развития запрограммированной гибели клеток.

В рецензируемой работе решены следующие задачи: проведен биоинформатический анализ и идентифицированы закодированные в геноме *T. aestivum* протеиназы; изучена вариативность протеиназ для двух сортов пшеницы с помощью жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС); оценены изменения профиля экспрессируемых протеиназ и ферментативной активности при заражении некротрофными и биотрофными грибковыми патогенами; исследован характер процессинга и активации *in vivo* тритикаина-альфа. Автором были впервые идентифицированы и охарактеризованы протеиназы пшеницы, обнаружены уникальные для вида *T. aestivum* группы протеиназ, которые не имеют близких гомологов, обнаружены существенные различия уровня экспрессии протеиназ на уровне сортов пшеницы, а также охарактеризована протеолитическая активность во время раннего ответа растений пшеницы при некротрофной и биотрофной инфекции. По данным автора, ранний иммунный ответ пшеницы сопряжен не только с каспазо-подобной и метакаспазо-подобной активностями, но и с другими протеолитическими активностями. А.В.Балакирева подробно исследовала процесс активации тритикаина-альфа в клетках пшеницы. В работе предложен новый метод определения статуса активации протеиназ *in vivo*, основанный на ЖХ-МС/МС. Эти результаты, изложенные в диссертации, производят впечатление и качеством, и объемом сделанного, и добротным

арсеналом использованных методов. В будущем, полученные данные могут послужить основой для создания новых сортов пшеницы, устойчивых к патогенам.

Диссертация оформлена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы (с подразделами, посвященными запрограммированной гибели клеток, роли протеиназ в иммунитете растений, папаин-подобным протеиназам и применению протеиназ в медицине), материалов и методов, результатов, обсуждения, выводов и списка литературы (327 источников). Эти разделы написаны хорошим языком и внимательно вычитаны, что редкость в кандидатских диссертациях последних лет.

По содержанию диссертационной работы у рецензента есть критические замечания, в основном относящиеся к стилю.

1. Термин «деградом» в применении к совокупности протеиназ организма не кажется удачным. В литературе этим термином часто обозначают совокупность продуктов распада белков или РНК, что вносит путаницу. Отметим, впрочем, что диссертант вводит термин корректно, со ссылкой на работу, где он был предложен.
2. Подразделы обзора литературы несут нерасшифрованные аббревиатуры в качестве названий (MTI, ETI и другие). Этот прием нельзя считать удачным – по традиции, заголовки, подписи к рисункам и Выводы должны быть автономными и не требовать отсылок к тексту и списку сокращений. Вообще, диссертация изобилует сокращениями – и это неизбежно в современной молекулярной биологии. Однако, помимо необходимой расшифровки аббревиатур при первом использовании, что автором соблюдается, неплохо иногда вернуться к полному названию, чтобы облегчить труд читателя, не заставляя его постоянно сверяться со списком сокращений. Например, иногда хорошо напомнить, что *R. reconditia* – возбудитель ржавчины злаковых, это оживило бы текст.
3. «Гонка вооружений» между патогеном и хозяином – вполне законный и точный термин, если он закавычен. К сожалению, автор не берёт эти слова в кавычки (стр. 16 и далее), что вызывает неуместные аллюзии к международной политике.

4. Стр. 37 и далее, в том числе в заголовке раздела Результаты – вместо «варьируется» (в применении к аминокислотному остатку, показателю pH или деградому пшеницы) лучше было бы написать «варьирует».
5. Во разделе Введение хотелось бы видеть данные по атласам протеиназ у других видов однодольных и двудольных растений. Эти данные читатель находит в Обсуждении – но хотелось бы их видеть в тексте раньше, при описании постановки задач диссертации.
6. Чем был продиктован выбор сортов пшеницы Хакасская и Дарья? Понятно, что сравнение сортов интересно и оправдано, и что два сорта – логический минимум. Была ли другая причина выбора, кроме повышенной устойчивости к патогенам сорта Дарья в сравнении с Хакасской?
7. В диссертации оценивались изменения экспрессии протеиназ через 24 часа после заражения грибковыми патогенами. Чем продиктован выбор временной точки, почему взята только одна точка? Этот вопрос возникает в связи с тем, что такие существенные ферменты, как метакаспазы, скорее всего не активировались через 24 часа (об этом упомянуто в Обсуждении).
8. Чем был продиктован выбор тритикаина-альфа как объекта для подробного изучения механизма созревания протеиназы пшеницы? Этот фермент наиболее важен в процессе программируемой клеточной гибели или других защитных реакциях? Экспрессия тритикаина-альфа резко менялась при атаке биотрофного и некротрофного грибкового патогена? Рецензент не нашел ответов на эти вопросы в диссертации.
9. В обсуждении, говоря о вирусах пшеницы, автору следовало бы в первую очередь упомянуть вирус желтой карликовости злаковых как наиболее опасный патоген, а не ограничиваться менее значимыми вирусами (вирусом штриховатой мозаики ячменя и другими).
10. В четвертом выводе говорится о том, что сайты процессинга, приводящего к активации протеиназ, в основном не являются мишенями каспазо-подобных и метакаспазо-подобных ферментов. К сожалению, уместное продолжение – «что могло бы указывать на...» - здесь отсутствует.

Эти недостатки существенно не снижают качества диссертации.

Содержание диссертационной работы представлено в трех научных статьях, опубликованных в международных рецензируемых научных журналах с высоким рейтингом ($IF > 4$). А.В.Балакирева является первым автором во всех публикациях.

Диссертация Анастасии Васильевны Балакиревой «Протеиназы пшеницы и их активация в норме и при биотическом стрессе» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на хорошем теоретическом и экспериментальном уровне и имеющей как фундаментальное значение, так и перспективы практического применения. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом им. М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.03 – «молекулярная биология», а также критериям, определенным в пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете им. М.В.Ломоносова, работа оформлена согласно положениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета им.М.В.Ломоносова.

У меня нет сомнений, что Анастасия Васильевна Балакирева заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор

заведующий сектором молекулярной вирусологии

кафедры вирусологии

Биологического факультета Московского государственного университета им.М.В.Ломоносова

Алексей Анатольевич Аграновский

9.10.2019

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@.....

Подпись сотрудника А.А.Агран
удостоверяю:

