

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Атабековой Анастасии Константиновны
на тему: «Функциональный анализ белков, кодируемых бинарным
блоком транспортных генов фитовирусов»
по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология**

Диссертация А.К. Атабековой посвящена изучению свойств и функций транспортных белков, кодируемых бинарным блоком транспортных генов вируса зеленой пятнистости гибискуса. Бинарный транспортный блок (ВМВ) кодирует два транспортных белка, которые индуцируют образование периферических мембранных телец, ассоциированных с плазмодесмами и обеспечивают межклеточный транспорт вируса. Новизна исследования заключается в установлении новых деталей функционирования транспортных белков бинарного транспортного блока, а также в установлении ультраструктурной организации вирус-индуцируемых периферических мембранных телец, которая ранее не была описана ни для вируса зеленой пятнистости гибискуса, ни для других фитовирусов.

Актуальность работы не вызывает сомнений. Изучение свойств и функций транспортных белков важно не только с точки зрения получения фундаментальных знаний о механизмах транспорта вирусов и макромолекул растениях, но и может способствовать разработке эффективных методов противовирусной защиты растений.

Диссертационная работа изложена на 145 страницах. Работа включает разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, и список литературы, представленный 271 источником. Работа иллюстрирована 25 рисунками и содержит 2 таблицы. Структура диссертации соответствует требованиям к оформлению диссертационных работ. Во введении сформулированы цели и задачи работы, указаны выносимые на защиту положения, обоснована новизна и актуальность работы, ее научная и практическая значимость, описан вклад автора, приведены сведения о достоверности полученных результатов, объекте и

методах исследования. Положения, выносимые на защиту опубликованы в пяти статьях в рецензируемых международных журналах.

Обзор литературы довольно объемный, начинается разделами, описывающими особенности межклеточного транспорта вирусов растений и общие свойства транспортных белков, а также описывает необходимость ремоделирования клеточных мембран для процессов репликации и транспорта вируса. Далее следует раздел кратко описывающий мембранные органеллы клетки, который сопровождается основным по объему разделом, подробно описывающим механизмы и примеры ремоделирования мембранных органелл клетки различными вирусами растений, а также известные данные о транспорте этих вирусов от мембранных компартментов репликации к плазмодесмам и в соседние клетки. Далее следует раздел рассматривающий вирус-индуцированные мембранные компартменты репликации как места, связывающие процессы репликации и транспорта. Завершается обзор литературы разделом, посвященным ранее опубликованным данным об объектах исследований - транспортных белках бинарного блока транспортных генов вируса зеленой пятнистости гибискуса.

Раздел «Материалы и методы» включает детализированное описание использованных методов и реактивов. В работе использован широкий набор методов, включая различные виды микроскопии (микроскопия сверхвысокого разрешения Airyscan, конфокальная и трансмиссионная электронная микроскопия, электронная томография), методы генетической инженерии, биоинформатические подходы, методы молекулярной биологии (Far-Western- и Western-блоттинг, количественная ПЦР, химическое сшивание, FRET-FLIM), а также гисто- и цитохимические окрашивания.

В разделе «Результаты и обсуждения» выделено 4 подраздела в соответствии с поставленными в работе задачами. В разделе детально представлены экспериментальные данные и их научно обоснованная интерпретация. В ходе работы А.К. Атабековой была показана способность белков бинарного транспортного блока взаимодействовать *in vitro* и *in vivo*, а

также, с использованием набора мутантов белков VMB1 и VMB2, были идентифицированы регионы белков, вовлеченные во взаимодействие, и показана необходимость этого взаимодействия для обеспечения способности белков направлять транспорт вируса. С помощью различных методов микроскопии была идентифицирована ультраструктурная организация периферических мембранных телец, ассоциированных с плазмодесмами образование которых индуцируется белком VMB2 из мембран эндоплазматического ретикулума. Было обнаружено, что эти мембранные компартменты представляет собой цистерны различных форм, связанные между собой специфическими протяженными межмембранными контактами. Было установлено, что белок VMB2 способен к высококооперативной олигомеризации, и была предложена модель согласно которой это свойство белка может лежать в основе механизма ремоделирования клеточных мембран. Было показано, что белок VMB1 индуцирует в растениях *N. benthamiana* защитную реакцию, которая супрессируется при совместной экспрессии с VMB2. Также была описана ядерная локализация белка VMB1, играющая роль в межклеточном транспорте вируса.

К представленной работе можно высказать несколько замечаний.

В разделе, посвященном локализации суперпродуцированного белка VMB2 вблизи плазмодесм, автор с огорчением отмечает отсутствие данного белка в самом канале плазмодесм. Но, может быть, дело в постановке эксперимента? Я бы предложил продуцировать белок VMB2 на фоне вирусной инфекции (например, TRV) или, как вариант, в присутствии РНК-транскрипта самого вируса гибискуса. Возможно, в комплексе с вирусной РНК белок сильнее бы «застревал» в канале.

Довольно много места в диссертационной работе уделено исследованию мембранных структур, ассоциированных с плазмодесмами, образование которых индуцируется белком VMB2. Представляется желательным, чтобы хотя бы в одном из своих экспериментов диссертант подтвердил происхождение наблюдаемых структур из эндоплазматического ретикулума.

Исследуя поведение белка ВМВ1, диссертант отмечает, что суперпродукция этого белка в листьях *Nicotiana benthamiana* вызывает увядание и некротизацию инфильтрированных областей на поздних стадиях продукции. Автор считает это «защитным ответом» на присутствие вирусного белка. Мне этот оптимизм кажется недостаточно обоснованным, поскольку при суперпродукции даже некоторых «родных» (т.е. растительных) белков могут наблюдаться аналогичные симптомы.

Связанный вопрос, на который мне не удалось найти ответ в диссертационной работе, хотя такой эксперимент наверняка ставился: а мутантный белок ВМВ1d22 (тот, который не взаимодействует с ВМВ2) – он вызывал защитный ответ или нет?

В ту же тему: по представленным результатам, суперпродукция белка ВМВ2 супрессирует описанный выше защитный ответ, вызванный продукцией белка ВМВ1. Мне было бы легче поверить в «функциональную» интерпретацию диссертанта, если бы в работе были приведены рисунки блотов, показывающих, что выявляемый уровень белка ВМВ1 не снижался при суперпродукции белка ВМВ2.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.3. Молекулярная биология (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. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Атабекова Анастасия Константиновна, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, профессор, заведующий отделом химии и биохимии нуклеопротеидов Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Вартапетян Андрей Борисович

подпись

15.05.2026 дата

Контактные данные:

+7 (495) 939-41-25, e-mail: varta@belozersky.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 02.00.10 - Биоорганическая химия (химические науки)

Адрес места работы: 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр. 40

Тел.: +7 (495) 939-41-25, e-mail: varta@belozersky.msu.ru

Подпись сотрудника

удостоверяю: