

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Чергинцева Дениса Александровича на тему «Дополнительные белки, кодируемые генными модулями, родственными тройному блоку транспортных генов вирусов растений», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

В своей диссертационной работе Д.А. Чергинцев занимался изучением свойств белков, гены которых являются дополнительными к тройному блоку генов, распространенному среди вирусов растений и кодирующему три белка, функции которых заключаются в транспорте вируса по растению. Один из изучаемых дополнительных белков, названный р42, является консервативным у вирусов рода *Allexivirus*, и функции его ранее не были показаны. В работе был выбран для изучения ген белка р42 X-вируса шалота. Ген второго белка был обнаружен в транскриптомных контигах мха *Dicranum scoparium* и у него был предсказан домен связывания дцРНК.

В ходе работ было установлено, что оба белка способны связывать РНК, при этом р42 связывает только оцРНК, делая это неспецифически, а vDRB – и оцРНК и дцРНК. Основываясь на полученных результатах о связывании РНК, была протестирована способность р42 и vDRB супрессировать РНК-сайленсинг. Для этого диссертантом был использован ряд тестовых экспериментальных систем. Было показано, что оба белка не способны супрессировать сайленсинг, вызванный двухцепочечной малой РНК, совместно временно экспрессированной с белками в присутствии репортерного гена белка GFP. Также р42 и vDRB не проявляли активности в отношении транспорта сигнала сайленсинга. Однако, было обнаружено, что р42 способен ингибировать сайленсинг, вызываемый одноцепочечной РНК, временно экспрессированной в растении. Диссертантом выдвигается предположение, что данная активность р42 вероятно связана с РНК-связывающей способностью белка, благодаря которой р42 может защищать РНК от систем деградации. Эти предположение согласуется с обнаруженной способностью р42 ингибировать процесс нонсенс-опосредованного разрушения транскриптов с длинными 3'-концевыми нетранслируемыми участками. Также было обнаружено, что р42 способен функционировать как слабый супрессор сайленсинга в модельной системе с использованием модифицированного вируса морщинистости турнепса (TCV-GFP), представляющего собой репортерную конструкцию, перемещение которой в соседние клетки происходит только при наличии совместно экспрессированного супрессора сайленсинга. В аналогичном эксперименте vDRB также проявлял свойства супрессора, при этом несколько более сильного, чем р42. С vDRB также был поставлен эксперимент по исследованию влияния белка на инфекцию X-вируса картофеля. Растения *Nicotiana benthamiana*, которые были заражены модифицированным вирусом, несущим в своем составе ген vDRB, проявляли более слабые симптомы инфекции, но при этом накапливали больше РНК вируса. Полученные данные на первый взгляд могут противоречить друг другу, но, вероятно, вызванное vDRB отсутствие усиление симптомов вирусной инфекции при большей вирусной нагрузке может объясняться функционированием vDRB в качестве супрессора сайленсинга, а также другими функциями белка, которые направлены на подавление других вариантов иммунного ответа растения. Иначе, отсутствие выраженных симптомов, которые часто вызывают вирусные супрессоры РНК-сайленсинга, могут быть объяснены проведением экспериментов в модельном растении, которое не является природным хозяином вируса, и которое может не содержать машинерии распознавания vDRB в качестве фактора авирулентности.

Также в работе была показана внутриклеточная локализация белков p42 и vDRB, изучавшаяся методом конфокальной микроскопии листьев, временно экспрессирующих слитные с GFP рекомбинантные p42 и vDRB. Установлено, что p42-GFP способен колокализироваться с микротрубочками, а vDRB-GFP формирует в цитоплазме мелкие тельца неизвестной природы, располагающиеся рядом с мембранами эндоплазматического ретикулума. Данные о внутриклеточной локализации при этом как бы стоят особняком в работе и не связаны с другими частями.

Помимо свойств белка p42, была также изучена его экспрессия, которая, как было установлено, происходит путем синтеза белка p42 на матрице тетрациклин-индуцируемой РНК по механизму "leaky scanning". При этом механизме трансляции рибосома, чтобы начать синтез p42, пропускает инициаторные последовательности генов тройного блока и иницирует на стартовом кодоне p42. Проведя исследования механизма, автор выдвигает справедливое заключение, что механизм "leaky scanning" может быть использован и при трансляции p42 с нативной субгеномной РНК вируса, которая также была обнаружена и картирована в рамках проделанной работы.

Работа Д.А. Чергинцева оставляет общее положительное впечатление, высокий уровень проделанной работы подтверждается двумя экспериментальными статьями в высокорейтинговых международных журналах, в которых опубликованы положения, выносимые на защиту. Также автором опубликована одна обзорная статья на тему диссертации. Таким образом, работа обладает достаточной степенью новизны и соответствует требованиям, установленным в Положении о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, предъявляемых к диссертации на соискание ученой степени, а сам автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Ляпина Ирина Сергеевна,

кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории системного анализа белков и пептидов отдела молекулярной биологии и биотехнологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук»

Подпись

дата 02.03.2026

Контактные данные:

тел.: +7(495) 335-01-00,

e-mail: amadeynemez@gmail.com

117997, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр Российской Федерации Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук»

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

Подпись Ляпиной Ирины Сергеевны заверяю

Ученый секретарь ГНЦ ИБХ РАН

доктор физико-математических наук



Олейников В.А.

дата 02.03.28