

О Т З Ы В

на автореферат диссертации Берестового Михаила Алексеевича «Дельта-9-ацил-липидная десатураза: локализация и функциональная роль в растительной клетке», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология).

Десатуразы – ферменты, модулирующие ненасыщенность мембранных липидов, играют важную роль в механизмах защиты и адаптации растений к биотическим и абиотическим факторам. Известно, что экспрессия генов, кодирующих эти ферменты, регулируется действием различных стрессовых факторов и гормонов. В настоящее время для выявления роли десатураз в механизмах адаптации растений активно используется экспрессия гетерологичных генов. Однако, данные об особенностях функциональной активности этих ферментов в зависимости от их внутриклеточной локализации очень фрагментарны. Таким образом, тема диссертационной работы Берестового М.А. «Дельта-9-ацил-липидная десатураза: локализация и функциональная роль в растительной клетке» безусловно является актуальной.

Необходимо отметить хорошую научную обоснованность представленной диссертационной работы на всех этапах её выполнения, начиная с определения цели и постановки задач, выбора объектов и методов исследования и заканчивая анализом полученных результатов и выводами.

Окруженные ригидной клеточной стенкой, клетки растений довольно часто с большим трудом поддаются методам флуоресцентной локализации субклеточных структур. В связи с этим вполне обоснованным является переход от микроскопического анализа локализации активности дельта-9-ацил-липидной десатуразы в клетках тканей листа к анализу протопластов, выделенных из агроинфильтрированных листьев. Разработанная для этого система транзиентной экспрессии генов является эффективной для оценки сигнальных последовательностей, локализации целевых белков и, на мой взгляд, будет востребована другими исследователями для решения задач подобного рода.

В диссертационной работе был использован ряд сложных исследовательских методов, включающих генно-инженерное конструирование, агроинфильтрацию, различные виды флюоресцентной микроскопии, газо-жидкостную хроматографию и масс-спектрометрию. Их успешное применение позволило создать эффективные векторные конструкции, обеспечивающие локализацию белкового продукта гена *desC* в строго специфичных компартментах растительной клетки, а также доказать функциональную активность этого продукта в изменении состава и массовой доли насыщенных и ненасыщенных жирных кислот.

Известно, что активность рекомбинантных генов в гетерологичных системах экспрессии может существенно различаться. Сравнительная оценка экспрессии рекомбинантного гена *desC* на примере двух видов табака позволила получить Берестовому М.А. приоритетные данные о влиянии дельта-9-ацил-липидной десатуразы на липидный метаболизм растений не только в зависимости от компартмента клетки, но и от вида растений, а также создать итоговую схему функционирования гетерологичных десатураз в растительной клетке.

Следует отметить, что диссертационная работа имеет не только теоретическое значение, заключающееся в получении новых приоритетных знаний о функциях дельта-9-ацил-липидных десатураз в растительных клетках, но и весьма значимый практический аспект: моделирование устойчивости к стрессовым факторам внешней среды.

Текст автореферата в большей части читается легко, основные положения и выводы работы изложены очень четко и ясно, что несомненно подразумевает глубокое владение материалом. Автореферат содержит достаточное количество таблиц и иллюстраций, необходимых для понимания сути работы. Несмотря на это, следует отметить, что автореферат содержит целый ряд опечаток, разбросанных по тексту, начиная с самой первой страницы (стр. 3, 4, 7, 10, 13). Поскольку пониманию текста эти опечатки не мешают, не вижу смысла перечислять их подробно. В разделе «Методология и методы исследования» говорится о выделении протопластов по «методу Носова». На мой взгляд, желательно было бы добавить в текст ссылку на данную именную методику, если она опубликована. На рисунке 2 вместо римских цифр более удачно было бы просто подписать компартменты локализации GFP-белка: в хлоропластах, в ЭПР, в цитоплазме. В случае обозначения данных компартментов по тексту встречаются их цифровые и буквенные обозначения, однако лучше было бы выбрать что-то одно. В таблице 5 присутствует параметр «DBI», который больше нигде не встречается, но, вероятно, по аналогии с предыдущей таблицей он обозначает индекс ненасыщенности жирных кислот (в английском варианте - double bond index). На рисунке 6 в предполагаемой схеме функционирования гетерологичных десатураз в качестве компартмента представлено липидное тело, обозначенное как «ОВ» (oil body). Однако нигде до этой заключительной схемы в тексте автореферата липидное тело не упоминалось. Введение новых компонентов и структур в схемы, рисунки и т.п. требует также и введения дополнительно их хотя бы минимального описания (буквально в нескольких словах) в тексте. Сделанные замечания в основном относятся к редактированию текста автореферата и ни в коем случае не умаляют качества выполненной работы или ее научной значимости.

Диссертационная работа Берестового М.А. представляет собой завершенное научное исследование. Достоверность полученных данных не вызывает сомнений, а выводы полностью соответствуют поставленным задачам. Диссертационная работа прошла серьезную апробацию, поскольку была представлена на 7-ми конференциях. Результаты исследования опубликованы в научных статьях.

Согласно материалам, изложенным в автореферате, диссертационная работа Берестового М.А. «Дельта-9-ацил-липидная десатураза: локализация и функциональная роль в растительной клетке» соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям, а сам докторант достоин присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология).

Сидорчук Юрий Владимирович,
научный сотрудник лаборатории
биоинженерии растений,
кандидат биологических наук
тел. +7(383) 363-49-63 доб.1109
e-mail: sidorch@bionet.nsc.ru

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики СО РАН»,
проспект академика Лаврентьева, 10,
630090, Новосибирск
Телефон: +7(383) 363-49-80
e-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru



/Сидорчук Ю.В./