

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Синельникова Игоря Геннадьевича
«Функциональная и биохимическая характеристика хитиназы растения *Drosera capensis*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

В настоящее время исследования в области биотехнологии, направленные на поиск новых подходов для защиты растений, которые могли бы стать альтернативой или дополнением к существующим в настоящее время методам борьбы с фитопатогенами или вредными насекомыми, вызывают особый интерес из-за проблем, вызванных негативными последствиями интенсивного применения пестицидов-ксенобиотиков. Одним из перспективных способов преодоления этих проблем является расширение арсенала биологических средств защиты сельскохозяйственных культур за счет природных соединений, в том числе ферментов, обладающих прямой антипатогенной активностью и (или) повышающих устойчивость растений к возбудителям болезней. В связи с этим диссертационная работа И. Г. Синельникова, целью которой было получение рекомбинантной хитиназы Chit19 из росянки капской (*D. capensis*), а также изучение ее биохимических характеристик и оценка фунгицидной активности, несомненно является актуальной.

Идея использовать насекомоядное растение в качестве источника хитиназы, которая могла бы стать эффективно действующим компонентом будущего средства защиты сельскохозяйственных культур, как от насекомых, так и от фитопатогенных грибов, содержащих хитин в составе своей клеточной стенки, представляется вполне обоснованной. Для достижения поставленной цели И. Г. Синельниковым использованы современные методы молекулярной биологии, энзимологии, выделения и анализа структуры белков и успешно выполнена большая экспериментальная работа по клонированию последовательности исходного гена *chit19* из *D. capensis*, подбору и оптимизации систем для его гетерологичной экспрессии, разработке схемы рефолдинга фермента и получению функциональной формы растворимой рекомбинантной хитиназы. Автором установлен важный факт того, что снижение каталитической активности после устранения хитин-связывающего домена не приводит к потере защитных свойств рекомбинантного фермента. Результаты этих экспериментов носят приоритетный характер, отражают новизну проведенных исследований и вносят вклад в современные представления о роли хитиназ в формировании индуцированной устойчивости к фитопатогенам.

Диссертационная работа И. Г. Синельниковым имеет не только теоретическое, но и практическое значение. Полученные автором дрожжевые штаммы, дающие высокий выход растворимой рекомбинантной хитиназы, на наш взгляд, имеют хорошие перспективы для использования в качестве ее продуцентов при создании препаративной формы средства защиты растений на основе Chit19. Кроме того, показанный в экспериментах с заражением листьев пшеницы защитный эффект против *P. nodorum*, и ингибирование *in vitro* прорастания спор *F. culmorum* свидетельствуют о принципиальной возможности применения подобного средства для борьбы с болезнями растений, которые кардинально различаются своим патогенезом. В частности, с септориозом колоса и листовой пятнистостью пшеницы (*P. nodorum*) или корневой гнилью злаковых и сухой гнилью клубней картофеля (*F. culmorum*). Важно также, что оба этих фитопатогенных гриба относятся к возбудителям опасных и распространенных заболеваний, которые причиняют серьезный экономический ущерб при выращивании ряда ценных сельскохозяйственных культур, прежде всего, злаковых.

В автореферате представлено полноценное изложение диссертационной работы. Достоверность данных не вызывает сомнений, там, где это необходимо, проведена их статистическая обработка. Выводы корректны и следуют из полученных результатов. Диссертантом опубликовано достаточное количество статей в отечественных и международных, в том числе высокорейтинговых, журналах. Кроме того, результаты исследований доложены на международных и российских конференциях.

Автореферат составлен в соответствии с правилами соответствующего стандарта РФ, в частности, в нем отражены конкретные положения, вынесенные на защиту, и личный вклад диссертанта, а также включены все остальные необходимые разделы. К сожалению, автору не удалось избежать технических ошибок при его оформлении. Так, на стр. 15 вместо ссылки на рисунок 6 (температурный оптимум) дана ошибочная ссылка на рисунок 7, иллюстрирующий результаты биотеста. Хотя, как следует из рисунка 7, ацетатный буфер не снижает интенсивность симптомов септориоза на отрезках листьев пшеницы, по сравнению с контролем (суспензией спор в воде), указание контроля в подписи под рисунком 10 следовало бы согласовать надписью на самом рисунке. Кроме того имеется ряд неисправленных опечаток, например, «...состоит из.... домен..., линкер... и каталитический домен.» вместо «домена», «линкера» (стр.7); «была построена гомологичную модель» вместо «гомологичная» (стр.10) и др. Не очень удачным являются также некоторые выражения, например, «стандартные патогены зерна» или «на срезах листьев из отделившихся листьев». По-видимому, в первом случае имеются в виду типичные для злаковых патогены, а во втором – отрезки изолированных (или отделенных от растения) листьев. Однако замеченные технические ошибки не снижают научной ценности работы и не искажают ее смысл.

В целом, диссертация И. Г. Синельникова является законченной оригинальной научно-исследовательской работой на актуальную тему, выполненной на высоком методическом уровне. Считаем, что она отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а ее автор заслуживает присуждения данной ученой степени по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Заведующая лабораторией патофизиологии
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский
институт фитопатологии», к.б.н.

И. А. Щербакова

Заведующий отделом молекулярной биологии
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский
институт фитопатологии», к.б.н.

В. Г. Джавахия



Адрес: ВНИИФ, 143050, Московская обл., Большие Вязёмы, ул. Институт, влад. 5.
Тел. 8(498) 694-10-07, e-mail: vniif@vniif.ru