



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ТИХООКЕАНСКИЙ ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. Г.Б. ЕЛЯКОВА
Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ТИБОХ ДВО РАН)

690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159;
Тел.: 7(423) 231-14-30; факс: 7(423) 231-40-50. электронная почта: office@tiboc.dvo.ru, www.tiboc.dvo.ru
ОКПО 02698170, ОГРН 1022502129540, ИНН 2539001223, КПП 253901001

№ 16146-184 от 10.06.2026
На № 4.10-26-615 от 10.06.2026

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель директора Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Тихоокеанский
институт биоорганической химии им.
Г.Б. Елякова Дальневосточного
отделения Российской академии наук



О.В. Черников

10 июня 2026 г.

ОТЗЫВ

Ведущей организации Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН) на диссертацию **Барашковой Анны Сергеевны** «Изучение структурного разнообразия и биологической активности защитных пептидов из семян нигеллы посевной (*Nigella sativa* L.)», представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. - Биоорганическая химия

Актуальность избранной темы

Представленная к защите диссертация Анны Сергеевны Барашковой посвящена поиску новых антимикробных пептидов растений и исследованию их биологической активности, в том числе в вегетативных экспериментах. Эта работа представляется крайне актуальной, поскольку защита сельскохозяйственных растений является одним из способов снижения рисков растениеводства, уменьшения экономических издержек, повышения урожайности и, в итоге, решения задачи обеспечения населения достаточным безопасным продовольствием.

Цели и задачи исследования

Цель данной диссертационной работы – выделения, оценке структурного разнообразия и исследовании спектра биологической активности защитных пептидов семян нигеллы посевной (*Nigella sativa* L.). Для достижения поставленной цели предполагалось решение следующих задач:

1. Оптимизировать способ выделения комплекса защитных пептидов из семян *N. sativa*;
2. Провести оценку структурного разнообразия защитных пептидов семян *N. sativa*;

3. Изучить биологическую активность защитных пептидов семян *N. sativa*;
4. Исследовать действие одного из выделенных пептидов на клеточном и молекулярном уровнях;
5. Оценить биологическую эффективность защитного пептида семян *N. sativa* в составе гибридного белка в условиях лабораторных и микровеgetационных экспериментов.

Научная новизна

В результате выполнения данной работы были получены следующие новые результаты:

1. Впервые был полностью охарактеризован комплекс защитных пептидов семян *N. sativa* и подтверждён биосинтез тионинов;
2. Детально изучено влияние одного из активных пептидов на рост микроскопического гриба *Aspergillus niger*;
3. Установлено, что гибридный белок, состоящий из тионина из семян *N. sativa* и тиоредоксина из *Escherichia coli*, вызывает нарушение накопления пигмента меланина в вегетативных и репродуктивных структурах (конидиях) гриба *A. niger*;
4. Показано, что гибридный белок, состоящий из тионина из семян *N. sativa* и тиоредоксина из *Escherichia coli*, увеличивает выживаемость растений ярового ячменя, зараженных возбудителем корневой гнили.

Теоретическая и практическая значимость

Оптимизированная схема выделения пептидов из семян *N. sativa* может быть использована в дальнейшем при изучении антимикробных пептидов других растений. Полученные пептиды имеют несомненную ценность как биохимические инструменты для изучения их влияния на мембраны клеток различных организмов, а также как основа для создания сельскохозяйственных биотехнологических препаратов. Практическая значимость полученных результатов несомненна, поскольку в результате исследований был получен гибридный белок, способный увеличивать выживаемость растений ярового ячменя, зараженных возбудителем корневой гнили.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Барашковой А. С. состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов, результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 165 страницах, включает 45 рисунков и 16 таблиц. Список цитируемой литературы включает 372 наименования.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы и новизну полученных результатов, обозначает практическую значимость данной работы, формулирует цель и задачи исследования, а также приводит список работ, в которых опубликованы полученные результаты.

Обзор литературы посвящен обобщению сведений об антимикробных пептидах (АМП). Приводится общая характеристика АМП, их классификация, характеристика отдельных семейств и сведения о биологической активности АМП.

В экспериментальной части подробно описываются все методы, которые применялись при выполнении работы. Глава 3 посвящена описанию полученных результатов, а глава 4 – их обсуждению. Разделы главы 3 описывают оптимизацию схемы выделения пептидов из семян *N. sativa*, выделение пептидов и идентификацию полученных соединений, антимикробную активность пептидов семян *N. sativa* и получение рекомбинантного гибридного белка, содержащего нигеллотинин NsW2, а также исследование его биологической активности. Отдельно выделена глава 4, в которой

обсуждаются полученные результаты с привлечением большого количества литературных данных.

Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам. Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертации. Основные научные результаты опубликованы в семи статьях в рецензируемых журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования диссертаций, а также представлены на восьми всероссийских и международных конференциях.

Вопросы и замечания:

Стр. 84. В тексте используются названия пептидов «нигеллотинины» и «нигеллотионины». Является ли это опечаткой или речь действительно идет о двух группах соединений?

В таблице 3.7. приведены данные о том, что нигеллотионин NsW2 подавлял рост грибов *Aspergillus fumigatus* и *A. flavus* только в начале эксперимента, однако в тексте отсутствует какое-либо обсуждение этих данных. С чем это может быть связано? Сохраняет ли пептид свою стабильность в условиях эксперимента? Можно ли говорить о том, что эти штаммы грибов способны деградировать нигеллотионин NsW2?

Раздел 3.3.7 описывает характеристики роста коллекционного штамма *A. niger* в присутствии нигеллотионина NsW2, однако в таблице 3.9 в этом разделе без каких-либо объяснений присутствуют данные об активности NsW2 в отношении двух штаммов *A. fumigatus*. С какой целью эти данные добавлены в таблицу 3.9?

Для оценки накопления биомассы *A. niger* в диссертационной работе оценивали изменение оптической плотности суспензий при длине волны 620 нм. Было ли учтено при выборе метода образование мицелия, биопленок, изменение размеров клеток, что характерно для мицелиальных грибов и может привести к некорректным результатам при выбранном методе определения биомассы?

Представляется целесообразным завершать подразделы, описывающие конкретные результаты, краткими выводами, которые бы связывали подразделы между собой и объясняли бы логику исследования. Например, в подразделе 3.3.10 описывается влияние пептида NsW2 на искусственные мембраны различного состава, имитирующие мембраны клеток млекопитающих, грибов и бактерий. Соответствуют ли полученные результаты предыдущим данным об антимикробной активности? Могут ли наблюдаемые различия в действии на мембраны объяснить различия в действии на разные клетки?

В разделе 3.4.4. описывается оценка фунгицидной эффективности Trx-NsW2 против гриба *Cochliobolus campestris* методом измерения радиальной скорости роста колоний гриба на твердой среде. Однако никакие полученные экспериментальные данные в этом разделе не приведены.

На рисунке 3.30 отсутствуют результаты статистической обработки полученных результатов, в связи с чем утверждение «Применение раствора гибридного белка Trx-NsW2 оказалось эффективным: оно приводило к увеличению доли выживших растений и увеличению массы одного растения» требует дополнительных обоснований.

В разделе 3.3.8 приведены флюоресцентные микрофотографии конидий гриба *A. niger* после обработки пептидом NsW2, благодаря которым был зафиксирована «утечка конидиального содержимого» при действии пептида. Однако в диссертационном исследовании не были применены никакие современные количественные способы оценки

этой «утечки», например, количественный анализ изображений. Это ограничивает применение сделанных наблюдений.

В главе «Обсуждение результатов» (раздел 4.3.2.1., стр. 121) указано, что «Также была исследована антипролиферативная активность нигеллотионинов.». Это ошибочное утверждение: МТТ-тест в том виде, в каком он был использован, не позволяет оценить влияние пептидов на пролиферацию клеток.

В главе «Обсуждение результатов» (раздел 4.3.2.1., стр. 122) при анализе данных о цитотоксической активности пептидов сделан вывод о том, что пептид NsW2 способен проникать не только в клетку, но и в ядро. Хотелось бы, чтобы это утверждение сопровождалось обсуждением предполагаемых механизмов проникновения пептида внутрь клетки без нарушения ее целостности, поскольку схожие по структуре пептиды могут вызывать внутриклеточные реакции на молекулярном уровне и без проникновения внутрь клетки, взаимодействуя с поверхностными или внутримембранными рецепторами.

Организация разделов диссертационной работы в некоторых случаях затрудняет восприятие работы. Раздел 4.1. «Схема выделения АМП из семян нигеллы» содержит большое количество литературных данных (которые были бы более уместны в обзоре литературы), а также экспериментальные данные: например, на рисунке 4.1. приведены результаты масс-спектрометрического анализа белково-пептидного экстракта семян *N. sativa*. В подписи к рисунку отсутствуют ссылки на литературный источник, что ставит вопрос о том, являются ли эти данные полученными в ходе выполнения диссертации (и тогда они должны были быть описаны в другом разделе).

Раздел 3.3 называется «Антимикробная активность пептидов семян *N. sativa*», но он также включает в себя подраздел «3.3.9. Цитотоксическая активность нигеллотионина NsW2 семян *N. sativa* в отношении опухолевых и нормальных клеточных линий *in vitro*».

После прочтения обзора литературы осталось неясным, на каком основании была выбрана именно такая комбинация рекомбинантного белка Trx-NsW2, содержащего нигеллотионин NsW2 и бактериальный тиоредоксин. Обоснование выбора сделано только в главе 4 «Обсуждение результатов».

В разделе 4.3.1. «Активность нсЛПБ семян нигеллы» главы «Обсуждение результатов» обсуждается также возможная биологическая активность дефензина NsD4 из семян *N. sativa*.

В разделе 3.3. при описании полученных результатов дублируется описание методов. На рисунках 3.16 и 3.17 отсутствуют подписи, какой из дисков на чашке содержит какое вещество.

Текст диссертации содержит большое количество опечаток, невыверенных предложений и разговорных оборотов: «Белково-пептидный экстракт (БПЭ) из семян *N. sativa* был исследован на предмет наличия АМП в предыдущих работах» (стр. 75); «Аминокислотные замены выходят во внешнее пространство. Это позволяет рассмотреть их вклад в активность пептида.» (стр. 79); «Новые пептиды демонстрируют высокий уровень антибактериальной активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, что имеет особое значение в связи с ограниченным разнообразием агентов, действующих на грамотрицательные патогены. Однако уровень активности NsLTPs оказался относительно низким.» (стр. 117); «В эволюционном разрезе» (стр. 129); «в рамках одного растения» (стр. 135).

В диссертации отсутствует список используемых сокращений, а некоторые из них используются в тексте хаотично на русском и английском языках, например ЛБП и ЛТР (стр. 117).

Все вышеуказанные замечания не касаются конкретных полученных результатов и не уменьшают ценности и значимости работы, поэтому общее впечатление от диссертационной работы остается положительным.

Заключение

Таким образом, диссертация Барашковой Анны Сергеевны «Изучение структурного разнообразия и биологической активности защитных пептидов из семян нигеллы посевной (*Nigella sativa* L.)» представляет собой законченную научно-квалификационную работу и соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (со всеми изменениями Постановлений Правительства РФ), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. - Биоорганическая химия.

Отзыв на диссертационную работу Барановой А.А. рассмотрен и утвержден на совместном семинаре лаборатории химии микробных метаболитов и лаборатории биоиспытаний и механизма действия БАВ ТИБОХ ДВО РАН (протокол № 5 от 10 июня 2026 г.)

Кандидат химических наук,
и.о. заведующего лабораторией химии
микробных метаболитов

 Юрченко Антон Николаевич

Кандидат биологических наук,
с.н.с.

 Юрченко Екатерина Александровна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук

Почтовый адрес: 690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159

Рабочий телефон: +7(423)2311168

e-mail: yurchenkoan@piboc.dvo.ru

Подписи Юрченко А.Н. и Юрченко Е.А. удостоверяю,

Ученый секретарь ТИБОХ ДВО РАН,

к.х.н. Борисова К.Л.

