

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертационной работы Шаховой Екатерины Сергеевны «Репортерная система на основе улучшенной биолюминесцентной системы грибов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Биолюминесцентные репортерные системы широко применяются в современной молекулярной биологии, биотехнологии и синтетической биологии для мониторинга экспрессии генов и физиологических процессов в живых системах. При этом автономные биолюминесцентные системы представляют особый интерес, поскольку не требуют внесения экзогенного субстрата и позволяют проводить неинвазивную регистрацию сигнала в реальном времени. Вместе с тем эффективность таких систем в значительной степени определяется яркостью свечения и является ключевой задачей для применения этого молекулярного инструмента.

Недавно открытая биолюминесцентная система грибов, уже примененная для создания автономно светящихся гетерологичных организмов, стала объектом оптимизации в данной работе. Важным результатом стало выявление улучшенных компонентов биолюминесцентной системы грибов: ортолога гиспидинсинтазы *mcitHispS* из *Mycena citricolor*, а также мутантных форм *pnH3N\_v2* и *pnLuz\_v4*, обеспечивших существенный прирост сигнала. На основе этих компонентов была собрана улучшенная система FBP3, которая, как показано в автореферате, повышает интенсивность свечения на 1-2 порядка в растительных клетках, дрожжах и культуре клеток млекопитающих. Для систематического сравнения транскрипционных единиц в растительных клетках автором впервые был применён высокопроизводительный подход агробактериального заражения полусухих агрегатов культуры клеток ВУ-2, для которого показана хорошая корреляция с традиционной системой агроинfiltrации листьев. Результаты в растительных системах оказались наиболее впечатляющими: в листьях *Nicotiana benthamiana* и клетках ВУ-2 система FBP3 значительно превосходила исходный вариант, а также была существенно ярче автономной бактериальной биолюминесцентной системы. Кроме того, были получены автономно светящиеся трансгенные растения нескольких видов, включая *Nicotiana tabacum*, *N. benthamiana*, *Arabidopsis thaliana*, *Populus canadensis* и *Petunia hybrida*.

Практическая значимость исследования не вызывает сомнений. Разработанная улучшенная система FBP3 представляет собой перспективный инструмент для создания репортеров и биосенсоров, пригодных для мониторинга физиологических процессов в растениях и других эукариотических системах. Важным достоинством является возможность регистрации сигнала без добавления субстрата, а также достижение уровня свечения, достаточного в ряде случаев для использования планшетных ридеров и даже обычной камеры смартфона. Это заметно расширяет потенциальную область применения разработанной системы в фундаментальных исследованиях, прикладной биотехнологии и синтетической биологии. Приятное впечатление производит большой объем работы, внимательность автора к дизайну экспериментов и довольно подробное объяснение полученных данных. Выполненная работа достоверна и не вызывает сомнений, представлена на нескольких конференциях, а также в полной мере изложена в 3 публикациях в высокорейтинговых рецензируемых журналах, в том числе, в ведущем журнале «Nature Methods».

По автореферату имеется несколько вопросов:

- 1) Чем могут объясняться различия эффективности системы ГВРЗ в растительных клетках и клетках млекопитающих?
- 2) Проводилась ли оценка возможной токсичности экспрессии системы ГВРЗ для растений? Оказывает ли экспрессия данной системы влияние на рост, развитие и физиологическое состояние растений при длительном культивировании?

Комментарии имеют дискуссионный характер и не снижают значимости полученных результатов и высокой оценки работы.

Таким образом, считаю, что диссертационная работа Шаховой Е.С. является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методическом уровне и полностью соответствует всем критериям (пп. 9-14) «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено положением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности - 1.5.3 – «Молекулярная биология», а сама автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук.

Заведующая лабораторией молекулярной онкологии  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени  
академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства»  
(ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА)

кандидат химических наук

Шендер Виктория Олеговна

Шендер В.О.

Адрес: 119435, Россия, г. Москва,

Малая Пироговская, д. 1а.

Тел.: +7(909)911-9049

E-mail: shender\_vika@mail.ru

«Подпись Шендер В.О. удостоверяю»

Ученый секретарь ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА,

кандидат биологических наук

Кострюкова Елена Сергеевна



Кострюкова Е.С.

“04” июня 2026 г.