

## ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора биологических наук, профессора Владимира Израилевича Муронца на диссертацию Ксении Андреевны Палкиной «Ферменты биосинтеза поликетид гиспидина из кофейной кислоты», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология**

Актуальность диссертации К.А. Палкиной не вызывает никаких сомнений, поскольку задача получения разнообразных люминесцирующих организмов очень интересна как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте. Хотя в названии работы отражено только одно, хотя и основное, направление исследования, а именно изучение ферментов биосинтеза поликетид гиспидина из кофейной кислоты, однако диссертация является гораздо более широким и комплексным проектом, затрагивающим процессы биолюминесценции в целом, причем у разных организмов - от дрожжей до высших растений.

Диссертационная работа К.А. Палкиной построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть (материалы и методы исследования, результаты исследований и их обсуждение), выводы, приложения и список цитируемой литературы. Работа изложена на 146 страницах и хорошо иллюстрирована 39 рисунками и 8 таблицами. Список литературы включает 253 источника на английском языке.

Во введении автор хорошо раскрывает актуальность исследования, его новизну и научную значимость. Именно из этого раздела становится ясным то значение, которое имеют ферменты биосинтеза гиспидина для процессов биолюминесценции.

В обзоре литературы подробно изложены основные сведения о биологической роли гидроксикоричных кислот в растениях и грибах и о ферментах биосинтеза гиспидина. Отмечены также медицинские свойства гиспидина, хотя именно этот раздел, изложенный очень кратко, можно было бы опустить. Действительно, гиспидин, также как многие производные коричной кислоты, обладает определенными характеристиками, которые делают его пригодным для использования в качестве биологически активных добавок, однако, как отмечает

автор обзора, механизмы его действия мало изучены. Таким образом, в данном обзоре можно было бы избежать упоминания о медицинском применении гиспидина, сосредоточившись на других более важных сведениях, чтобы не прерывать логику изложения. Подробное и квалифицированное изложение роли гиспидина в биоломинесценции грибов, а также описание гетерологической экспрессии генов ферментов биосинтеза поликетидов производит очень хорошее впечатление. Эти разделы легко и интересно читать. По обзору литературы и списку ссылок есть несколько небольших замечаний. Может быть стоило бы завершить обзор литературы неким заключением, связав ключевые особенности биосинтеза гиспидина с биоломинесценцией у разных организмов. В списке литературы отсутствуют ссылки на публикации в отечественных журналах, хотя по теме работы они есть, в том числе публикации сотрудников лаборатории, где проводилось исследование. Мне кажется, что стоило привести ссылки на эти работы. Список сокращений излишне подробный. Можно было бы опустить общепринятые сокращения. В целом в тексте автор явно злоупотребляет сокращениями, причем даже в выводах. Иногда лучше было бы приводить полное или обобщенное название белков, уточняя их более конкретное название в скобках. Такой подход облегчил бы чтение текста.

Раздел «Материалы и методы» написан очень хорошо и подробно. Знакомство с этим разделом позволяет сделать вывод о достоверности полученных результатов, а также о широком спектре использованных методов. Этот раздел хорошо дополнен приложениями, которые полезны и для раздела «Результаты».

Описание результатов подробное, четкое и хорошо иллюстрированное. Автору удалось сделать очень много важных и полезных наблюдений. Более того, мне кажется, что даже части из них было бы вполне достаточно для написания полноценной диссертации. В целом проблема, изучению которой посвящена работа, очень интересная. Создавать растения, запускать люминесценцию в которых можно просто добавляя соединение, превращающееся через цепочку реакций в субстрат для люцефифразы, красивая идея. Не говоря уже и о других аспектах работы. На этом пути автору удалось получить много интересных результатов. Автор подробно изучил функционирование ферментов биосинтеза гиспидина в разных организмах, что позволило создать эффективно действующие



биолюминесцентные каскады в нескольких объектах. Так, на клетках дрожжей было доказано функционирование биолюминесцентного каскада, использующего кумаровую и феруловую кислоты, что указывает на широкую субстратную специфичность всех ферментов биолюминесцентной системы грибов. Кроме того, впервые был создан гибридный биолюминесцентный каскад, состоящий из поликетидсинтаз III типа и 4-кумароил-КоА лигаз растений, а также ферментов Luz и H3H из гриба, функционирующий при добавлении кофейной кислоты к клеткам дрожжей и млекопитающих. Интересны наблюдения, полученные на модели клеток дрожжей, которые показали, что поликетидсинтазы III типа из эволюционно далеких растений, включая мохообразные, хвощи, однодольные и двудольные, способны в паре с кумароил-КоА лигазой производить гиспидин из кофейной кислоты. Очень важно, что изучение поликетидсинтаз III типа позволило заменить в растениях два фермента – *nnHispS* и *NpgA*, значительно сократив размер генетической конструкции, необходимой для автономной биолюминесценции. И наконец один из наиболее интересных результатов, касается получения стабильных линий растения *N.benthamiana*, в которых эффективно функционировала гибридная биолюминесцентная система, причем на разных этапах его развития. Информация о том, что в этом случае лимитирующей стадией является реакция, катализируемая поликетидсинтазой III типа, открывает дополнительные возможности для дальнейшего улучшения характеристик светящихся растений.

По экспериментальной части и по диссертационной работе в целом есть несколько вопросов, небольшие замечания и предложения. Отсутствие в названии работы упоминания биолюминесценции сужает тему диссертации и не позволяет сразу оценить ее важность. С другой стороны, авторы могли бы расширить работу, указав на возможность более широкого применения полученных результатов. Так, хорошо известно, что различные гидроксикоричные кислоты применяются в медицине, причем в отличие от гиспидина, их применение основано на достаточно полной доказательной базе. Можно было бы в перспективе рассмотреть возможность избирательного блокирования путей их трансформации, в том числе за счет ингибирования активности исследованных в работе ферментов. В этом случае можно было бы получать растения пусть и не светящиеся, зато накапливающие полезные соединения. Возможно, что при выборе организмов,

содержащих максимальные количества гидроксикоричных кислот, можно было бы использовать такой признак как отсутствие билюминесценции. Обширная и весьма разнообразная экспериментальная часть требует хорошего обобщающего заключения, которое в работе отсутствует.

Высказанные в отзыве замечания носят рекомендательный характер и не умаляют ценности интересного и важного исследования, проведенного К.А. Палкиной.

Достоверность и значимость полученных результатов обусловлена грамотным использованием современных молекулярно-генетических и биохимических методов исследования, а также разумным планированием экспериментов и адекватной оценкой полученных результатов.

Выводы диссертационной работы научно обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам. Полученные результаты не вызывают сомнений в объективности и достоверности. Статистическая обработка данных проведена корректно с использованием современных методов.

В целом, результаты диссертационной работы характеризуются высокой степенью новизны и имеют существенную теоретическую и научно-практическую значимость.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, хорошо обоснованы и полностью подтверждены приведенными экспериментальными результатами.

Основные результаты диссертации опубликованы в научной печати. Так, по теме диссертации опубликовано 3 статьи в научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертационных работ. Кроме того, результаты работы были представлены на различных научных конференциях.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Заключение. Диссертационное исследование К.А. Палкиной «Ферменты биосинтеза поликетидов гиспицина из кофейной кислоты», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной



задачи, важной для развития молекулярной биологии. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.3 - «Молекулярная биология».

По актуальности, использованию широкого набора методов, новизне, объему экспериментальных данных, научной и практической значимости диссертационная работа «Ферменты биосинтеза поликетидов гиспидина из кофейной кислоты» Ксении Андреевны Палкиной полностью соответствует критериям (в том числе п.9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 со всеми последующими изменениями Постановлений Правительства РФ), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - «Молекулярная биология».

Доктор биологических наук, профессор,  
заведующий отделом биохимии животной клетки  
Научно-исследовательского института физико-химической  
биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного  
университета имени М.В. Ломоносова,

Владимир Израилевич Муронец

Контактные данные:

Адрес: Москва, 119992, Ленинские горы, дом 1, строение 40,  
рабочий e-mail: [vimuronets@belozersky.msu.ru](mailto:vimuronets@belozersky.msu.ru)  
рабочий телефон: +7(495) 939-14-56,

Специальность, по которой официальным оппонентом  
была защищена диссертация: 03.01.04 (1.5.4) – «биохимия»

Подпись В.И. Муронца заверяю  
и.о. директора научно-исследовательского института  
физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского  
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова  
член-корреспондент РАН

П.В. Сергиев

25 апреля 2025 г.

