

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Киселева Константина Вадимовича «РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА И ЗНАЧЕНИЕ СТИЛЬБЕНОВ В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6.- Биотехнология (биологические науки).

Исследования Киселева Константина Вадимовича, результаты которых отражены в автореферате диссертации, посвящены актуальной как с теоретической, так и с практической точек зрения теме естественных механизмов регуляции биосинтеза стильбенов, в частности, трансвератрола, в произрастающих на Дальнем Востоке РФ растениях (*Vitis amurensis*, *Picea jezoensis*, *Pinus koraiensis*) и каллусных культурах клеток (*V. amurensis*, *Arabidopsis thaliana*). Стильбены в растениях являются важной частью систем, обеспечивающих их устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам, в том числе, к ультрафиолетовому излучению, благодаря их антиоксидантной активности. Последнее свойство определяет их потенциальную ценность для использования в медицинских целях, однако требует поиска их источников среди культурных или дикорастущих растений, а также разработки и оптимизации методов экстракции из растительного сырья. Данной проблеме посвящена значительная часть исследований Константина Вадимовича. Хотим отметить, комплексный подход, осуществленный им, к ее решению, так как в автореферате рассматривается как содержание стильбенов в различных частях растений и сезонная динамика их накопления, так и возможность увеличения их содержания обработками растений ультрафиолетовым светом (УФ-С) и предшественниками фенольных соединений. Особое внимание уделяется биосинтезу стильбенов в каллусных культурах и возможности получения клеточных линий суперпродуцентов стильбенов методами генетической инженерии.

Так, в работе Константина Вадимовича впервые показано, что кора *Picea jezoensis* содержит наибольшее количество стильбенов среди доступных источников сырья. Так же впервые была получена клеточная линия *V. amurensis* с высоким выходом стильбенов, экспрессирующая ген *rolB* из *Agrobacterium rhizogenes*, и установлены такие гены, как *VaCPK20* и *VaCML65*, обладающие высоким потенциалом для получения линий, синтезирующих целевые вторичные метаболиты.

Результаты работы подробно описаны и позволяют полностью обосновать все выносимые на защиту положения. Так, приводятся данные по составу и количеству стильбенов в различных частях хвойных растений *P. jezoensis* и *P. koraiensis* и было показано их максимальное присутствие в коре деревьев зимой и весной. Наибольшее количество стильбенов в растениях *V.*

*amurensis* приходилось на корни и стебли. В этом же разделе показано, что обработка черенков *P. jezoensis* и *V. amurensis* пара-кумаровой кислотой увеличивает их толерантность к облучению УФ-С, вероятно, благодаря увеличению содержания в них стильбенов и экспрессии генов, кодирующих стильбен-синтазы (STS). Описана серия экспериментов по увеличению содержания стильбенов в каллусных культурах винограда амурского путем их обработки кумаровой кислотой, УФ-С, жасмоновой и салициловой кислотами. При этом было обнаружено увеличение экспрессии генов STS и уменьшение их метилирования, что говорит о том, что в отсутствие стрессовых факторов биосинтез стильбенов сдерживается метилированием ДНК соответствующих генов или регуляторных последовательностей.

Несомненно, большой вклад в понимание механизмов регуляции биосинтеза стильбенов в растительных клетках вносят результаты исследований экспрессии генов в клеточных линиях и растениях винограда амурского и арабидопсиса, на основе которых были получены так же трансгенные культуры растений. Важным выводом относительно культуры винограда является то, что трансформация клеток регуляторными генами, которые могут индуцировать экспрессию некоего пула генов, в том числе STS, является более выгодной стратегией для получения сверхпродуцентов стильбенов, чем трансформация отдельными генами, кодирующими ферменты их биосинтеза. Представляется, что эта закономерность может быть экстраполирована на многие задачи, связанные с получением продуцирующего вещества вторичного метаболизма клеточных линий. Однако, данная работа имеет в большей части фундаментальное значение, так как помогает разобраться в особенностях регуляции биосинтеза стильбенов сигнальными системами растений. Так, были идентифицированы протеинкиназы и факторы транскрипции, принимающие участие в запуске синтеза стильбенов в ответ на стимулы, индуцирующие приток ионов кальция, и впоследствии способствующие передаче сигналов, связанных с действием про-/антиоксидантной системы растений. В свою очередь, стильбены индуцируют активацию экспрессии генов метаболизма фитогормонов и антиоксидантов, другими словами, запускают сигнальный каскад, приводящий к развитию защитных реакций растений. Таким образом, в работе развивается мысль о том, что стильбены сами по себе являются регуляторными молекулами, роль которых в растительных клетках выходит далеко за рамки антиоксидантных или антибиотических (в случае патогенных микроорганизмов) молекул.

Исследования проведены с использованием современных методов анализа содержания вторичных метаболитов и экспрессии генов, на соответствующем оборудовании, все результаты прошли тщательную статистическую обработку и их достоверность не вызывает сомнений. Материалы диссертации опубликованы в 70 печатных работах.

По своей актуальности, методическим подходам, качеству и объему экспериментального материала, научной новизне исследований, диссертационная работа Киселева Константина Вадимовича «Регуляция биосинтеза и значение стильбенов в клетках растений» соответствует требованиям п. 9-11, 13, 14, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6.- биотехнология.

### Отзыв предоставили:

Сорокань Антонина Вячеславовна  
кандидат биологических наук (03.01.04 – Биохимия),  
старший научный сотрудник лаборатории биохимии иммунитета  
растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного  
подразделения Федерального государственного бюджетного научного  
учреждения Уфимского федерального исследовательского центра  
Российской академии наук.

450054, г. Уфа, пр. Октября, 71, тел. 8(347)235-60-88

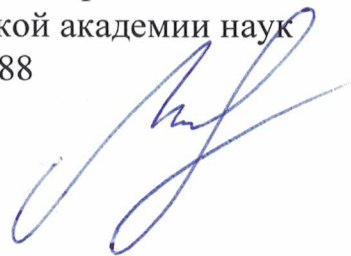
e-mail: fourtyanns@googlemail.com



Максимов Игорь Владимирович  
Доктор биологических наук (03.01.05. – Физиология и биохимия  
растений), профессор, главный научный сотрудник, заведующий  
лаборатории биохимии иммунитета растений Института биохимии и  
генетики – обособленного структурного подразделения Федерального  
государственного бюджетного научного учреждения Уфимского  
федерального исследовательского центра Российской академии наук

450054, г. Уфа, пр. Октября, 71, тел. 8(347)235-60-88

e-mail: igor.mak2011@yandex.ru



25.12.2024

Подписи Сорокань А.В. и Максимова И.В. заверяю:

Ученый секретарь ИБГ УФИЦ РАН Д.С.И., М.А. Бермишева

