

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, зам. директора по научной работе СИФИБР СО РАН Боровского Геннадия Борисовича на диссертацию Федорина Дмитрия Николаевича «Биохимические и молекулярные механизмы фитохром-зависимой световой регуляции функционирования ферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот в растениях», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.21 Физиология и биохимия растений.

Работа Д.Н. Федорина посвящена изучению механизмов фитохром-зависимой регуляции изоферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот в растительной клетке при изменении светового режима. Фитохромная система осуществляет регуляцию активности сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы и аконитатгидратазы посредством контроля уровня экспрессии их генов. Данные ферменты и их изоформы были подробно исследованы автором. Они были очищены до электрофоретически гомогенного или высокоочищенного состояния, автор выяснил их субклеточную локализацию, изоферментный состав, каталитические и кинетические характеристики.

Установлено, что фотоактивный фитохром блокирует транскрипцию генов митохондриальных изоферментов, что приводит к уменьшению количества их мРНК в клетке. Эти данные четко коррелируют с угнетением каталитической активности сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы и аконитатгидратазы в листьях растений под действием красного света (КС). Определено, что фитохромная регуляция опосредует свое действие через внутриклеточные и внутриядерные трансдукторы. Показана четкая корреляция между уровнем транскрипции генов исследуемых изоферментов и содержанием свободных ионов кальция в ядрах. Накопление свободных ионов кальция в ядре запускает каскадный механизм трансдукции фитохромного сигнала посредством специфических транскрипционных факторов семейства P1F, обеспечивающего регуляцию экспрессии генов при взаимодействии с G-участком их промоторов. Внутриядерный механизм реализации фитохромного сигнала осуществляется транскрипционным фактором P1F3. Исследования мутантных форм *A. thaliana* позволили установить, что в качестве регулятора функционального состояния фермента выступает фитохром A.

В работе показан эпигенетический механизм регуляции экспрессии генов изоферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот. Механизм трансдукции фитохромного сигнала обуславливает регуляцию ДНК-метилтрансфераз посредством кальмодулинов. Изменение активности ДНК-метилтрансфераз, обусловленное наличием в клетке активной формы фитохрома A, вызывает изменение степени метилирования CG-динуклеотидов промоторов генов изучаемых изоферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот. Изменение метильного

статуса CpG-островков промоторов генов исследуемых изоферментов определяет уровень их транскрипции при изменении светового режима растений.

Практическая значимость работы заключается в установлении особенностей регуляции энергетического метаболизма растений, обусловленного функционированием дыхания и фотосинтеза в растительной клетке, что позволяет разработать способы контроля данных процессов, обеспечивающих увеличение урожайности и устойчивость растений при воздействии стрессовых факторов на растение.

Выявленные механизмы фитохром-зависимой регуляции скорости функционирования изоферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот позволяют осуществлять контроль условия культивирования растений и повысить их урожайность за счет оптимизации спектральных характеристик освещения.

Диссертация Д.Н. Федорина изложена на 220 листах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, изложения результатов исследований и их обсуждения, выводов, заключения, приложения, списка литературы, включающего 411 источников. Работа иллюстрирована 22 таблицами и 75 рисунками.

Обзор литературы посвящен анализу особенностей строения, функционирования и регуляции изоферментов цитратсинтазы, аконитатгидратазы и сукцинатдегидрогеназы в растениях. Большое внимание уделяется фитохром-опосредованной регуляции экспрессии генов. При этом автор отмечает малую изученность молекулярных и эпигенетических механизмов контроля экспрессионной активности генов при изменении условий освещения растений. На основе анализа литературы делается заключение, какие нерешенные на сегодняшний день проблемы имеются в этой области. В связи с этим, сформулирована цель работы, которая заключалась в исследовании биохимических и молекулярных механизмов фитохром-зависимой световой регуляции активности ферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот и уровня экспрессии их генов в растениях.

Для реализации поставленной цели исследования по изучению механизмов фитохром-зависимой световой регуляции активности ферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот и уровня экспрессии их генов в растениях в работе использованы современные методы исследования, применяемые в физиологии растений, биохимии, биоинформатике, молекулярной биологии.

Результаты собственных исследований автор излагает в разделе «Результаты и обсуждение». В ходе исследований автором получены данные о влиянии красного и дальнего красного света в различном сочетании на скорость функционирования изоферментов цитратсинтазы, аконитатгидратазы и сукцинатдегидрогеназы в листьях растений, дающие возможность подбора оптимальных условий выращивания данных культур с целью получения высоких урожаев. Одной из задач

исследования была разработана модель трансдукции фитохромного сигнала в растительной клетке, объясняющей регуляцию функционирования изоферментов сукцинатдегидрогеназы, аконитатгидратазы и цитратсинтазы. Полученные Дмитрием Николаевичем данные биохимических и молекулярных механизмов фитохром-опосредованной регуляции изоферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот в листьях растений, позволяют учитывать различные характеристики светового режима растений для подбора оптимальных способов выращивания.

В целом, соискателем была проведена большая работа, результаты которой интересны как для фундаментальных аспектов физиологии и биохимии растений, так и для прикладных аспектов. Установленные в работе особенности трансдукции фитохромного сигнала в клетке растений и механизм регуляции экспрессии генов изоферментов сукцинатдегидрогеназы, аконитатгидратазы и цитратсинтазы при их облучении КС и ДКС светом, позволяют осуществлять контроль интенсивности дыхательного метаболизма клетки. Полученные данные могут дать основу для разработки оптимальных условий культивирования исследуемых растений для их максимальной продуктивности.

Тем не менее, работа не лишена некоторых недостатков. В данном отзыве хотелось бы отметить следующие:

1. В ходе работы было установлено, что фитохромная система осуществляет регуляцию активности изоферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот посредством трансдукции своего сигнала в ядро и контроля транскрипционной активности соответствующих генов. Однако, в растительной клетке присутствует семейство фитохромов, принимающих участие в восприятии красной части спектра света. Автором не проведено исследование участия всех видов фитохромов, присутствующих в растительной клетке, в регуляции исследуемых ферментных систем, что дало бы возможность более полной оценки вклада фитохромной системы в контроль скорости их функционирования.

2. В работе уделяется внимание изучению регуляции экспрессии генов изоферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот на уровне изменения метильного статуса цитозина в составе CG-динуклеотидов. Установлены зависимости показателей метильного статуса и экспрессионной активности исследуемых генов. Однако, для растений важное значение в регуляции экспрессии генома играет аденилатное метилирование. Автор в работе не уделил внимания роли метильного статуса аденина в составе промоторов генов исследуемых изоферментов, что могло бы расширить картину механизма их контроля на молекулярно-генетическом уровне.

3. В диссертации осуществлена очистка до гомогенного или высокоочищенного состояния ферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот. Это кропотливая, тонкая и трудная работа. Не очень понятно почему автор не

использовал существующие другие эффективные и достаточно простые способы получения энзимов в высокоочищенном состоянии, например, аффинную хроматографию.

В целом диссертационная работа Д.Н. Федорина выполнена на высоком уровне. Выводы соответствуют результатам, представленным в диссертации. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Хотелось бы отметить высокий уровень и большое количество публикаций автора по данной теме. Результаты диссертационной работы опубликованы в 159 публикациях и тезисах, из них 21 - журналах, рекомендованных списком ВАК РФ, 32 - рецензируемых журналах систем Web of Science и Scopus.

Таким образом, считаю, что диссертационная работа Федорина Дмитрия Николаевича на тему: «Биохимические и молекулярные механизмы фитохром-зависимой световой регуляции функционирования ферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот в растениях», полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук (пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»), а ее автор, Федорин Дмитрий Николаевич заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.21 Физиология и биохимия растений.

«13» *декабря* 2013 года

Официальный оппонент:

Заместитель директора по научной работе

Сибирского института физиологии  
и биохимии растений

Сибирского отделения РАН

(СИФИБР СО РАН),

доктор биологических наук, профессор

(03.00.12 - Физиология и биохимия растений, 2003)

 Боровский Геннадий Борисович

«13» *декабря* 2013 года

Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения  
Российской академии наук (СИФИБР СО РАН), 664033, г. Иркутск, Лермонтова  
132, СИФИБР СО РАН

Тел: +7 (3952) 425951

E-mail: [borovskii@sifibr.irk.ru](mailto:borovskii@sifibr.irk.ru)

Я, Боровский Геннадий Борисович, даю согласие на обработку моих персональных данных, связанную с защитой аттестации и оформление аттестационного дела Федорина Д.Н.



Боровский Геннадий Борисович

« 18 » декабрь 2023 года



Подпись: *Боровский Г.Б.*  
**ЗАБЕРЯЮ**  
Начальник отдела кадров: *Д.В. Ковалева Д.В.*  
*28.12.2023г.*