

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Федорина Дмитрия Николаевича «Биохимические и молекулярные механизмы фитохром-зависимой световой регуляции функционирования ферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот в растениях»,
представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук
по специальности 1.5.21. – Физиология и биохимия растений

Диссертационная работа Д.Н. Федорина посвящена исследованию вовлечённости фитохром-опосредованных механизмов в регуляцию экспрессии генов и ферментной активности сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы и аконитатгидратазы.

Отклик дыхательных ферментов на изменение светового режима, в том числе его спектральной компоненты, отмечали многие исследователи. Однако молекулярные механизмы световой компетентности, в частности, фитохром-зависимости функционирования этих ферментов до сих пор остаются не раскрытыми в полной мере. В связи с этим, работа Д.Н. Федорина, безусловно, актуальна.

Следует отметить, что в своих исследованиях Дмитрий Николаевич успешно применил как классические методы, относящиеся к «золотому стандарту» биохимии, так и современные экспериментальные подходы и методы молекулярной биологии и биоинформатики. Выполненная диссертационная работа представляется хорошо спланированным и успешно реализованным комплексным научным исследованием.

Новизна работы Д.Н. Федорина заключается в убедительной и достоверной демонстрации дифференциальной регуляции митохондриальных и немитохондриальных изоферментов сукцинатдегидрогеназы (СДГ), цитратсинтазы (ЦС) и аконитатгидратазы (АГ) на уровне их биохимической функции и экспрессии соответствующих генов, опосредованной реализацией воздействия света через активную форму фитохромов А и В с последующим вовлечением ионов кальция, кальмодулинов и фактора транскрипции PIF3. Безусловная новизна работы также обусловлена выявлением дополнительного эпигенетического уровня регуляции изоферментов СДГ, ЦС и АГ за счёт изменения статуса метилирования CpG-островков в промоторных областях соответствующих генов. В результате, Д.Н. Федорин представил оригинальную модель трансдукции фитохромного сигнала в клетке растений и механизм регуляции экспрессии генов изоферментов СДГ, ЦС и АГ при их облучении красным и дальним красным светом.

В совокупности, диссертационная работа Дмитрия Николаевича Федорина вносит весомый вклад в понимание фитохром-опосредованных механизмов регуляции экспрессии генов и активности ферментов метаболизма ди- и трикарбоновых кислот.

Небольшие замечания.

1. В разделе «Создание разных условий светового режима» (стр. 9) указано, что "после прорастания растения помещали в темную камеру на 24 часа...и облучали красным и/или дальним красным светом...". Обычно выражение "после прорастания" относят к первым часам онтогенеза растения. Однако дальше в работе речь идёт о зелёных листьях, возраст которых не очень ясен.

2. Для читателя, не погружённого в детальный контекст исследований, не сразу понятно, что *SDH1-2* и *SDH2-3* гены кодируют субъединицы А и В у *Arabidopsis* (стр. 17-18), что следовало бы пояснить. Это относится и к гомологичным генам кукурузы.

3. На стр. 21 (рис. 6) указано, что "важное значение в данном процессе играет кальмодулин 7 поскольку для генов *CALM7-1* и *CALM7-4*, кодирующих его в геноме кукурузы, характерно высокое содержание транскриптов при облучении растений красным светом". Однако на рис. 6, во-первых, очевидно превалирование матриц *CALM7-2* и *CALM7-3*, во-вторых, на мой взгляд, на красный свет реагирует только *CALM7-4*.

4. В тексте неоднократно упоминается о протеинкиназной активности кальмодулинов: стр. 23 – "...приводит к активации кальмодулина 7, проявляющего киназную реакцию..."; стр. 32 – "... Поскольку кальмодулины не имеют возможности взаимодействия с молекулой ДНК, а могут выступать в качестве регуляторов белковой активности за счет их ковалентной модификации путем фосфорилирования..."; стр. 33 – "...приводит к индуцированию определенных механизмов активации внутриядерных транскрипционных факторов путем их фосфорилирования киназами, в том числе и кальмодулинами 7 и 3..."; стр. 35 – "Кальмодулины, являясь протеинкиназами...". Сами кальмодулины, как известно, не обладают протеинкиназной активностью.

Вопросы.

1. Насколько уровень активности пероксисомальной цитратсинтазы на свету и в темноте отражает активность именно ЦС, а не суммарную активность ЦС + активность обратной реакции АТФ-цитратлиазы?

2. В работе было проанализировано изменение содержания свободных катионов кальция в ядрах клеток кукурузы при разных условиях освещения и показано, что увеличение содержания катионов кальция наблюдается при облучении растений красным светом. Уровень кальция может меняться под действием многих факторов и, соответственно, будет ли реакция на уровне транскриптов СДГ? Чем задаётся специфичность уровня Ca^{2+} , дабы получить специфичный ответ?

3. На стр. 22 говорится, что "каскадный механизм фитохром-зависимой регуляции генов СДГ обеспечивает транскрипционный фактор PIF3, поскольку увеличение его мРНК вызвано образованием активной формы фитохрома А в растительной клетке в ответ на ее облучение красным светом". Однако далее идёт положение о фосфорилировании PIF3, зависящем от активной формы фитохрома А и о том, что "фосфорилированная форма транскрипционного фактора PIF3 отсоединяется от E-участков промоторов генов *SDH1-2* и *SDH2-3* и снижается их экспрессия". Спрашивается, зачем при облучении красным светом сначала необходимо индуцировать накопление матриц PIF3, доводить дело до белка PIF3 и затем сразу же выводить этот белок из игры? К чему такие энергетические и субстратные затраты?

Хочется отметить, что высказанные замечания не критичны, а вопросы имеют дискуссионный характер. Следует подчеркнуть, что представленная Д.Н. Федориным работа является приоритетной, поскольку в настоящее время комплексные исследования разных уровней регуляции активности центральных ферментов энергетического метаболизма, не проводятся в каких-либо других научных коллективах.

Заключение, представленное в работе, полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Основные материалы диссертации нашли отражение в

исчерпывающем объёме в российских и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК РФ, и были обнародованы на многочисленных отечественных и международных конференциях.

Считаю, что диссертационная работа Д.Н. Федорина по своей актуальности, высокому методическому уровню, научной и практической значимости результатов соответствует п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённых постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 и требованиям, предъявляемым ВАК Минобрнауки России к докторским диссертациям.

Автор диссертационной работы, Федорин Дмитрий Николаевич, безусловно, заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.21. – Физиология и биохимия растений.

Носов Александр Владимирович

доктор биологических наук (1.5.21.),
старший научный сотрудник лаборатории
биологии культивируемых клеток
ФГБУН Института физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН
127276 г. Москва, ул. Ботаническая, д. 35.
тел +7 (499) 678-54-00,
E-mail: alexv.nosov@mail.ru



Носов А.В.

16 января 2024 г.



*Подпись Носова А.В.
подтверждаю
специалист по кадрам
М. А. Бросилова
16.01.2024г.*