

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Китаевой Марии Петровны, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук, на тему «Клеточная культура *Podophyllum peltatum* L. как продуцент биологически активных веществ, обладающих цитотоксической активностью» по специальности 1.5.6. Биотехнология

Культуры клеток и тканей растений представляют собой важные продуценты ценных для человека биологически активных метаболитов, к числу которых относятся и различные соединения фенольной природы. Большое внимание уделяется подбору условий для их культивирования, включая состав питательных сред, плотность и длительность выращивания, а также изучению состава биологически активных веществ и его сравнения с таковым интактного растения. И в этом случае исследование клеточных культур *Podophyllum peltatum* L. как продуцента соединений с цитотоксической активностью, представляет значительный интерес в фундаментальном и прикладном плане и свидетельствует об актуальности диссертационной работы Китаевой Марии Петровны. Основной целью работы было изучение морфофизиологических характеристик *in vitro* культур подофилла щитовидного, состава и содержания в них фенольных соединений, в том числе подофиллотоксина, а также цитотоксической активности их экстрактов как альтернативы лекарственному растительному сырью.

Диссертационная работа М.П. Китаевой построена по традиционному плану. Она содержит такие разделы, как «Введение», «Обзор литературы», «Объекты и методы исследования», «Результаты исследования и их обсуждения», «Заключение», «Рекомендации», «Выводы». Список литературы представлен 193 источниками, преимущественно зарубежных авторов (139). В разделе «Приложение» представлен акт о внедрении в учебный процесс ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России результатов исследования М.П. Китаевой, а также таблицы с экспериментальными данными и исходные хроматограммы экстрактов клеточных культур и органов растений (всего 8 документов). Диссертационная работа изложена на 162 страницах машинописного текста, содержит 7 таблиц, 46 рисунков и фотографий.

Во введении подробно освещена актуальность научной работы, сформулирована цель и задачи исследования, отмечена научная новизна и практическая значимость работы, приведено краткое изложение основных ее разделов, перечислены положения, выносимые на защиту. Отмечено соответствие диссертации паспорту научной специальности 1.5.6. – биотехнология. Приведены сведения об апробации результатов работы на различных научных конференциях.

Глава 1 «Обзор литературы» представлена девятью небольшими подразделами, посвященными *Podophyllum peltatum* L. *in vivo* и *in vitro*. Приводятся сведения о систематике этого растения, ростовым характеристикам, получении клеточных культур, составу метаболитов, цитотоксической активности фенольных соединений, а также методическим подходам при изучении этих вторичных метаболитов.

В главе 2 «Материалы и методы» дано подробное описание объекта и методов исследования, спектр которых широк и соответствует поставленным целям. Это методы биотехнологии (культивирование клеток в условиях *in vitro*, подбор питательных сред), физико-химические (изучение состава метаболитов, получение экстрактов), хроматографические (газовая хроматография и ультраэффективная жидкостная хроматография), а также медико-биологические (оценка цитотоксичности экстрактов). Следует отметить и использование физиологических методов при определении ростовых параметров клеточных культур, их сырого и сухого веса, а также оценке жизнеспособности клеток. Все это свидетельствует о хорошей методической подготовке диссертанта.

В главах 3-5 излагается экспериментальный материал, полученный М.П. Китаевой в процессе работы. В первую очередь уделено внимание получению суспензионных культур из каллусов корня, почки и плода *Podophyllum peltatum*, их морфофизиологическим характеристикам и оценке роста. Далее проведено сравнение цитотоксической активности экстрактов, полученных из различных органов интактного растения и суспензионных культур. Исследован состав метаболитов, присутствующих в экстрактах из этих *in vivo* и *in vitro* клеток подофилла методами тонкослойной, газовой и ультраэффективной жидкостной хроматографии. Сообщается о наличии в них лигнана подофиллотоксина – ценного растительного метаболита с высокой биологической активностью. Все эти данные интересны в плане биотехнологического использования клеток *Podophyllum peltatum* как потенциальных продуцентов биологически-активных метаболитов.

В заключении М.П. Китаева еще раз кратко обобщает основные результаты исследования, уделяя внимание оценке роста суспензионной культуры *Podophyllum peltatum*, наиболее эффективным экстрагентам для извлечения из нее фенольных соединений, изучению их состава и оценке фитотоксической эффективности. На основе полученных данных суспензионную культуру, полученную из корня этого растения, рассматривает и рекомендует как наиболее перспективное биотехнологическое сырье для получения экстрактов, проявляющих противоопухолевую активность.

Диссертантом сформулировано шесть выводов, соответствующих поставленным целям и задачам, а также подтвержденных экспериментальными результатами.

Вопросы и замечания по диссертации

1. Обзор литературы достаточно краток, содержит основные данные и направления по изучению *Podophyllum peltatum* в условиях *in vivo* и *in vitro*, что соответствует теме диссертации. Однако два последних раздела этой глава (1.8 и 1.9) касаются методов исследования (анализ фенольных соединений, определение цитотоксической активности веществ). Какова цель их представления в обзоре литературы?
2. В главе 2 «Объекты и методы исследования» отсутствует описание получения каллусных культур *Podophyllum peltatum* (или ссылка).
3. Какие задачи стояли перед диссертантом при изучении суспензионных культур подофилла щитовидного в возрасте 28 дней, то есть в фазе деградации (см. стр. 65 диссертации)? В этот период все биосинтетические процессы претерпевают значительные изменения, что подтверждается и данными по составу метаболитов в культурах этого возраста.
4. Почему данные по жизнеспособности представлены только для 28-дневной суспензии, полученной из плода? Что отмечалось для других культур?
5. Имеются неточности при формулировках: «фермент феруловая кислота» (стр. 32), «липофильная фракция фенольных соединений» (стр. 94).
6. Вызывает сожаление отсутствие четкого представления приоритета данного исследования по сравнению с более ранними работами других исследователей по изучению присутствия подофиллотоксина в культуре *Podophyllum peltatum* (например, Савина, 2003).

Сделанные замечания носят рекомендательный характер, относятся скорее к представлению результатов, а не к изложению их сути, а значит не снижают оценки исследования, выполненного М.П. Китаевой.

Диссертация является завершенным научным исследованием, основные результаты отражены в опубликованных автором работах, выводы достоверны и обоснованы, а их научная и практическая значимость несомненна.

Содержание автореферата полностью соответствует основным идеям и выводам диссертации.

Работа соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.6 - Биотехнология по п. 7 (в части: системы выращивания клеточных культур растений и животных для направленного синтеза биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, биологически активных соединений), по п. 9 (в части: оценка качества и безопасности новых видов продуктов, полученных биотехнологическими методами; методы контроля подлинности биотехнологических продуктов).

Диссертация "Клеточная культура *Podophyllum peltatum* L. как продуцент биологически активных веществ, обладающих цитотоксической активностью" соответствует требованиям к кандидатским диссертациям, изложенным в пп. 9–14 Положения о присуждении научных степеней, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями от 26.09.2022 г.), а автор работы, Китаева Мария Петровна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. — биотехнология.

09.01.2023

Официальный оппонент:

доктор биологических наук (1.5.21 — Физиология и биохимия растений),

профессор,

ведущий научный сотрудник,

руководитель группы фенольного метаболизма растений,

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук

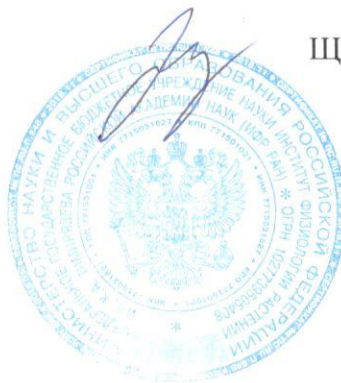
Россия, 127276 Москва, ул. Ботаническая д. 35

Тел: +7(499) 678-54-00, внутренний: 658; e-mail: zagoskina@ifr.moscow

Загоскина Наталья Викторовна

Подпись Загоскиной Натальи Викторовны удостоверяю:

Ученый секретарь ИФР РАН



Щербакова Наталья Витальевна