

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Куликова Максима Павловича

«Молекулярно-генетический подход к поиску новых нерибосомально синтезируемых противогрибковых метаболитов бактерий»,

представленную на соискание ученой степени **кандидата** биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки)

Актуальность. Представленная диссертационная работа посвящена разработке нового подхода к поиску продуцентов нерибосомально синтезируемых пептидов – особых бактериальных метаболитов с противогрибковыми и антимикробными свойствами. В настоящее время проблема контроля популяций фитопатогенных грибов становится все более острой - применяемые в сельском хозяйстве фунгициды оказывают токсическое действие на окружающую среду и человека, способствуют формированию и распространению резистентности. На этом фоне поиск альтернативных средств защиты сельскохозяйственных растений и животных представляется весьма актуальным. Классический подход, основанный на функциональном скрининге штаммов-продуцентов, крайне трудоёмок и нередко приводит к повторному описанию уже известных соединений. В связи с этим создание молекулярно-генетических и биоинформатических инструментов, позволяющих прогнозировать структуру и активность метаболитов по геномным данным без масштабного эмпирического скрининга, представляет собой актуальную и востребованную задачу современной генетики и биотехнологии.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций. Заявленные на защиту положения опираются на обширный массив литературных данных, собственных экспериментальных и

вычислительных результатов. Начиная с литературного обзора, подходов к составлению баз данных для обучения модели и выбора методов исследований, вся работа выполнена и описана подробно и обстоятельно. Данные, полученные в результате вычислительных методов *in silico* проверены и сопоставлены с результатами, полученными *in vitro* и модельными экспериментами *in vivo* на модельных организмах. Проведена проверка эффективности модели и достоверности предсказаний. Сформулированные в работе выводы вытекают непосредственно из представленного экспериментального материала, внутренне непротиворечивы и опираются на корректно проведённую статистическую обработку данных.

Результаты работы опубликованы в рецензируемых журналах и представлены на научных конференциях.

Научная новизна и практическая значимость работы. Соискателем впервые предложена целостная схема прогнозирования противогрибковой активности нерибосомальных пептидов, основанная исключительно на геномной информации вероятного продуцента. На её основе построена модель AFPredictor, позволяющая выявлять больше активных соединений, чем при стандартной аннотации программой antiSMASH, с точностью предсказания до 81%. Продемонстрированы преимущества скрининга геномных данных на уровне субкластеров, показаны важнейшие предикторы наличия антимиккотической активности прогнозируемых метаболитов, а также выявлен надёжный маркер отсутствия фунгицидного эффекта у продукта кластера (MbtH-подобные белки). При помощи модели впервые выявлен новый лихенизин-подобный метаболит штамма *Bacillus safensis* AG46, противогрибковое действие которого подтверждено экспериментально. Практическая ценность работы также дополняется охарактеризованными штаммами прикладного назначения — фитостимуляторами AG46 и AG8, а

также пробиотическими для аквакультуры штаммами MT48 и MT74, которые могут быть рекомендованы к практическому использованию.

Объем и структура диссертации. Работа построена по традиционной схеме и включает введение, три главы (литературный обзор, материалы и методы, результаты исследования), заключение с выводами, список цитируемой литературы и четыре приложения; общий объём текста — 164 машинописные страницы, иллюстрированные 35 рисунками и 7 таблицами. Обширный список литературы (182 наименования) включает как фундаментальные работы, так и новейшие статьи по предмету исследования.

Обзор литературы выполнен подробно и последовательно, предоставлена вся необходимая информация об архитектуре и принципах функционирования нерибосомальных пептид-синтетаз (НРПС), работе составляющих их доменов. Также систематизированы известные типы НРПС, дан обзор инструментов их биоинформатической аннотации (antiSMASH, NERPA).

В главе «Материалы и методы исследования» представлена информация об использованных объектах (69 бактериальных штаммах, фитопатогенных грибах, растениях-мишенях и гидробионтах) и о методической базе работы, включая применяемые методы, протоколы, характеристику биоинформатических конвейеров сборки геномов, таксономической идентификации и формирования обучающей выборки для последующего машинного обучения, а также схема модельных экспериментов *in vivo* на ячмене и стерляди с оценкой экспрессии генов иммунного ответа.

Глава Результаты и обсуждение представляет результаты каждого этапа исследования. Подробно освещены этапы создания и обучения алгоритма AFPredictor, выбора использованной модели, анализа значимости признаков и

выявления ключевых предикторов фунгицидной активности метаболитов с показанной *in vivo* активностью.

Вся работа представляет собой целостный законченный труд, выполненный и описанный с вниманием и аккуратностью.

К работе имеются некоторые вопросы и замечания:

1. В разделе 3.2 автор указывает на то, что поликатионные пептиды (такие как полимиксины) не осаждаются при кислотной преципитации (рН 2.0), что приводит к их отсутствию в масс-спектрах. Возникает вопрос, почему для верификации предсказаний не были применены дополнительные методы экстракции, позволяющие выделить данную фракцию пептидов для подтверждения их синтеза?

2. При интерпретации данных ПЦР-РВ (снижение экспрессии генов PR-1 и PR-2 у ячменя) автор делает вывод о перераспределении ресурсов растения. Было бы целесообразно также обсудить альтернативные гипотезы о возможном прямом иммуносупрессивном или элиситорном действии самих липопептидов на сигнальные пути растения.

3. Есть ряд технических и оформительских недочетов: проверить нумерацию рисунков и ссылок на них, расположить их ближе к соответствующему тексту. В подписях к рисункам использовать более крупный текст, не забывать приводить данные о статистической значимости, доверительных интервалах и размере выборки (количестве проростков). В таблицу Приложения 4 необходимо добавить отдельную графу с точностью предсказания противогрибковой активности.

Отмеченные замечания и вопросы ни в коей мере не подвергают сомнению достоверность результатов и выводов рассматриваемой диссертации, носят дискуссионный характер и направлены на возможное развитие темы в будущем.

Общее заключение. Диссертация Куликова М.П. является законченным фундаментальным научно-исследовательским трудом, выполненным автором на высочайшем методическом уровне. Полученные результаты, сделанные выводы и сформулированные положения научно обоснованы, достоверны, подтверждены значительным объемом геномных, биоинформатических и натурных данных, их строгой статистической обработкой. Работа написана грамотным научным языком, отлично проиллюстрирована и полностью соответствует уровню требований, предъявляемых к диссертациям. Важно отметить фундаментальное и прикладное значение диссертационной работы – полученные результаты имеют высокую научную значимость и практическую ценность и могут быть рекомендованы к использованию при решении прикладных задач.

Результаты исследования прошли широкую апробацию на международных и всероссийских научных конференциях. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, включая статьи в ведущих рецензируемых изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, что полностью удовлетворяет требованиям ВАК.

Диссертационная работа и автореферат отвечают требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Куликов Максим Павлович, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Официальный оппонент:

Марсова Мария Викторовна, кандидат биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика, старший научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов Федерального государственного бюджетного

учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)

«1» 09 2026 года

Марсова

119333, Россия, г. Москва, ул. Губкина, д. 3 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)

E-mail: masha_marsova@mail.ru

Тел.: +7 (499) 135-43-27

Подпись Марсовой М.В. заверяю:
Заместитель директора
по научной работе



К.Х.Н. Пестов Николай Борисович