

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.005.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ КАЗАНСКОГО ИНСТИТУТА БИОХИМИИ И БИОФИЗИКИ
КАЗАНСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 28.03.2017 № 38

О присуждении Фатыховой Валерии Сергеевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Структурно-функциональные свойства эпоксиалкогольсинтазы СУР5164В1 бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus*» по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений принята к защите 13 января 2017 г. (протокол № 37) диссертационным советом Д 002.005.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского д. 2/31 (приказ №105/нк от 11 апреля 2012 г.).

Соискатель Фатыхова Валерия Сергеевна, 1988 года рождения, в 2010 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Казанский (Приволжский) федеральный университет по специальности «генетика». В 2013 г. она окончила очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Казанском институте биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук (КИББ КазНЦ РАН) по специальности «биохимия». С 2010 г. по настоящее время Фатыхова В.С. работает в лаборатории оксипиринов КИББ КазНЦ РАН в должности младшего научного сотрудника. Диссертация Фатыховой В.С. выполнена в лаборатории оксипиринов КИББ КазНЦ РАН.

Научный руководитель – академик РАН Гречкин Александр Николаевич, заведующий лабораторией оксипинов в КИББ КазНЦ РАН.

Официальные оппоненты:

1. Савченко Татьяна Викторовна, РФ, доктор биологических наук, исполняющий обязанности ведущего научного сотрудника лаборатории фотоокисления воды Института фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино;

2. Соловченко Алексей Евгеньевич, РФ, доктор биологических наук, профессор кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва.

Оба оппонента дали положительные отзывы на диссертационную работу Фатыховой В.С.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов) в своем положительном заключении, подписанном Турковской Ольгой Викторовной, доктором биологических наук, руководителем лаборатории экологической биотехнологии, указала, что диссертация Фатыховой В.С. содержит достаточное количество экспериментальных данных и большой иллюстративный материал. Диссертация написана грамотным научным языком и оформлена в соответствии со всеми требованиями ВАК. Достоверность представленных в работе результатов не вызывает сомнений. Основные результаты диссертационной работы получены лично автором. Грамотная постановка соискателем цели и задач работы, глубокая проработка и анализ литературных данных по теме диссертации, применение в исследовании широкого спектра методов, а также интерпретация собственных результатов свидетельствуют о высоком экспериментальном и профессиональном уровне соискателя. В отзыве имеются замечания к изложению материала и вопросы, возникшие при анализе работы, но при этом отмечается высокий уровень диссертационной работы, отвечающей критериям, сформулированным в разделе II «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а автор работы,

Фатыхова Валерия Сергеевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Соискатель имеет 20 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 3 статьи, опубликованных в рецензируемых научных изданиях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Ермилова (Фатыхова) В.С. Изменение каталитических свойств дивинилэфирсинтаз в результате единичных аминокислотных замен / В.С. Ермилова (Фатыхова), С.С. Горина, Е.В. Осипова, Я.Ю. Топоркова, Л.Ш. Мухтарова, Ю.В. Гоголев, академик А.Н. Гречкин // Доклады академии наук. – 2013. – Т. 452. - № 5. – С. 567–570.

2. Toporkova, Y.Y. Structure-function relationship in the CYP74 family: Conversion of divinyl ether synthases into allene oxide synthases by site-directed mutagenesis / Y.Y. Toporkova, V.S. Ermilova (Fatykhova), S.S. Gorina, L.S. Mukhtarova, E.V. Osipova, Y.V. Gogolev, A.N. Grechkin // FEBS Letters. – 2013. – V. 587. – P. 2552–2558.

3. Toporkova, Y.Y. Epoxyalcohol synthase of *Ectocarpus siliculosus*. First CYP74-related enzyme of oxylipin biosynthesis in brown algae / Y.Y. Toporkova, V.S. Fatykhova; Y.V. Gogolev, B.I. Khairutdinov, L.S. Mukhtarova, A.N. Grechkin // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2017. – V. 1862(2). – P. 167-175.

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов:

от д.б.н., профессора, зав. лабораторией экологической физиологии растений ФГБУН Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН (ИБ Коми НЦ УрО РАН) Головки Т.К.: отзыв положительный, имеется следующее замечание: «Хотя работа представлена по специальности физиология и биохимия растений, в автореферате очень скудно представлена информация о физиологической роли исследуемых ферментов. Например, какие последствия можно ожидать при получении растений – мутантов с измененной С-концевой последовательностью?»;

от д.м.н., профессора, зав. отделом лабораторной диагностики инфекций, передающихся половым путем, и дерматозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России Дерябина Д.Г.: отзыв положительный, замечаний нет;

от д.б.н., доцента, в.н.с. лаборатории водной микробиологии ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН Яценко-Степановой Т.Н. и к.м.н., доцента, зав. центром коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» Плотникова А.О.: отзыв положительный, замечаний нет;

от д.б.н., зав. лабораторией ризосферной микрофлоры ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Белимова А.А.: отзыв положительный, замечаний нет;

от к.б.н., доцента кафедры микробиологии и иммунологии Российского государственного аграрного университета МСХА имени К.А. Тимирязева Свиридовой Л.А.: отзыв положительный, замечаний нет;

от д.б.н., зав. кафедрой биохимии и биотехнологии Института фундаментальной медицины и биологии КФУ Киямовой Р.Г.: отзыв положительный, замечаний нет;

от д.б.н., в.н.с. лаборатории клеточной регуляции отдела молекулярных биосистем ФГБУН Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН Новиковой Г.В.: отзыв положительный, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются ведущими специалистами в данной области и имеют научные работы, опубликованные в центральных российских и зарубежных изданиях, относящихся к тематике защищаемой диссертации, а ведущая организация является передовым учреждением, занимающимся решением важнейших проблем в областях физиологии и биохимии растений.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан комплекс методических подходов для получения и очистки рекомбинантных ферментов семейства CYP74 и их мутантных форм с учетом индивидуальных особенностей этих белков. Впервые в геноме *Ectocarpus siliculosus* выявлен ген, кодирующий фермент CYP5164B1. Данный фермент обладает высокой степенью сходства с аминокислотными последовательностями ферментов CYP74; на основе искусственно синтезированной последовательности, кодирующей фермент CYP5164B1, получен соответствующий очищенный рекомбинантный фермент;

предложены доказательства принадлежности фермента CYP5164B1 к клану CYP74: на основании данных филогенетического анализа, структурных и механистических особенностей, данных экспериментов по сайт-направленному мутагенезу;

доказано, что для каталитической активности фермента CYP5164B1 основное значение играет С-концевой, но не N-концевой участок.

Теоретическая значимость исследования определяется тем, что в настоящей работе расшифрован механизм каталитического действия фермента EsEAS, включающий следующие стадии: (1) гомолиз гидроперекисной группы; (2) перегруппировка образующегося оксирадикала с образованием эпоксиаллильного радикала; (3) рекомбинация эпоксиаллильного радикала с гидроксильным радикалом, в результате чего образуется эпокиспирт. Изложены факты, свидетельствующие о принадлежности фермента CYP5164B1 к клану CYP74. Полученная информация вносит существенный вклад в понимание эволюционной истории клана CYP74.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанные и описанные в работе системы получения и препаративной очистки цитохромов растений могут быть применены в промышленности. Качественное изменение ферментативного катализа при сайт-направленном мутагенезе может представлять интерес для практического использования в биоинженерии. Результаты работы могут способствовать

разработке алгоритмов направленной модификации белков с целью получения ферментов с заданными свойствами.

Эффективным подходом для выявления каталитически-значимых сайтов внутри консервативных каталитически важных доменов ферментов клана CYP74 является биоинформационный анализ, полученные с его помощью расчеты были подтверждены экспериментально. Были получены мутантные формы фермента EsEAS, а также мутантные формы алленоксидсинтазы LeAOS3 и дивинилэфирсинтазы NtDES, и охарактеризованы каталитические свойства полученных ферментов мутантных типов по сравнению с ферментами дикого типа.

Всесторонний анализ экспериментальных данных и их статистическая обработка позволяют считать полученные результаты достоверными, а выводы обоснованными. Обсуждение полученных результатов проведено с привлечением сведений, представленных в отечественной и зарубежной литературе.

Личный вклад соискателя в выполнении данного исследования состоит в том, что научные положения диссертации и выводы базируются на результатах собственных исследований автора либо данных, полученных при его непосредственном участии совместно с сотрудниками КИББ КазНЦ РАН Топорковой Я.Ю., Мухтаровой Л.Ш., Хайрутдиновым Б.И.

Фатыхова В.С. непосредственно участвовала на этапах проведения исследований, обработки и анализа полученных данных, а также в подготовке основных публикаций совместно с научным руководителем и другими соавторами. Результаты исследования были представлены лично Фатыховой В.С. на российских и международных конференциях в виде устных и стендовых докладов.

На заседании 28 марта 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Фатыховой Валерии Сергеевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве – 14 человек, из них 6 докторов наук (03.01.05 – физиология и биохимия растений), участвовавших в заседании, из 21 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 14, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Зам. председателя диссертационного совета,

д.х.н., проф.

Ученый секретарь

диссертационного совета, к.б.н.



Зуев Юрий Федорович

Пономарева Анастасия Анатольевна

29.03.2017 г.