

Утверждаю:  
Директор КИББ КазНЦ РАН,  
академик РАН, Гречкин А.Н.



«31» августа 2016 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального государственного бюджетного учреждения науки Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук.**

Диссертация «Структурно-функциональные свойства эпоксиалкогольсинтазы СУР5164В1 бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus*» выполнена в лаборатории оксипинов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук (КИББ КазНЦ РАН). В период подготовки диссертации с 2010 по 2016 г. соискатель Фатыхова Валерия Сергеевна работала в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Казанском институте биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук в должности младшего научного сотрудника. В 2010 г. окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Казанский (Приволжский) федеральный университет по специальности Генетика. Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано 29.08.2016 г.

Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Казанским институтом биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук. Научный руководитель: академик РАН Гречкин Александр Николаевич, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Казанского института биохимии и биофизики КазНЦ РАН.

По итогам обсуждения диссертации принято следующее заключение:

Научные положения диссертации и выводы базируются на результатах собственных исследований автора, либо полученных при его непосредственном участии совместно с сотрудниками КИББ КазНЦ РАН Топорковой Я.Ю., Мухтаровой Л.Ш.

Работа была выполнена с применением широкого спектра биохимических, биоинформатических и молекулярно-биологических методов исследования. Сделанные выводы основаны на тщательном анализе полученных экспериментальных результатов с привлечением литературных данных по изучаемому вопросу.

Диссертационная работа Фатыховой В.С. обладает несомненной научной новизной. Впервые в геноме бурой водоросли *E. siliculosus* выявлен ген фермента клана CYP74, ответственного за синтез оксипинов – эпоксиалкогольсинтазы EsEAS, которая была получена и охарактеризована в виде рекомбинантного фермента. Расшифрован механизм каталитического действия фермента EsEAS, включающий следующие стадии: (1) голиз гидропероксидной группы; (2) перегруппировка образующегося оксирадикала с образованием эпоксиаллильного радикала; (3) рекомбинация эпоксиаллильного радикала с гидроксильным радикалом, в результате чего образуется эпоксиалкоголь.

Впервые с помощью сайт-направленного мутагенеза получены мутантные формы дивинилэфирсинтазы NtDES (CYP74D3) табака обыкновенного (*Nicotiana tabacum*) с измененными механизмами каталитического действия. Мутантная форма NtDES V379F катализирует

образование продукта алленоксидсинтазной реакции, в то время как продукты дивинилэфирсинтазной и гидропероксидлиазной реакций образуются в следовых количествах. Мутантная форма NtDES V379C катализирует образование продуктов алленоксидсинтазной, гидропероксидлиазной, дивинилэфирсинтазной и эпоксиалкогольсинтазной реакций.

Впервые выявлены продукты эпоксиалкогольсинтазной активности в талломах представителей бурых водорослей: *Saccharina cichorioides*, *Sargassum pallidum*, *Coccophora langsdorfii* и *Pilaella littoralis*.

Полученные данные вносят существенный вклад в понимание механизмов регуляции метаболических процессов в живых системах в процессе роста и развития, а также в процессе взаимодействия со средой обитания.

Разработаны системы получения и препаративной очистки цитохромов растений, способные найти применение в промышленности. Качественное изменение ферментативного катализа при сайт-направленном мутагенезе представляет потенциальный интерес для практического использования в биоинженерии. Результаты работы могут способствовать разработке алгоритмов направленной модификации белков с целью получения ферментов с заданными свойствами.

Экспериментальные данные и методические приемы, изложенные в работе, могут быть использованы в сельскохозяйственных, медицинских, биологических и биотехнологических учреждениях, занимающихся разработкой способов выявления и лечения персистентных инфекций, а также в учебном процессе при чтении курсов лекций по микробиологии, физиологии растений и фитопатологии в ВУЗах.

Основное содержание работы достаточно полно отражено в 20 трудах, опубликованных соискателем, из которых 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Учитывая актуальность диссертационной работы Фатыховой В.С. «Структурно-функциональные свойства эпоксиалкогольсинтазы CYP5164B1



бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus*», научную новизну и значимость полученных результатов, теоретический и экспериментальный уровень работы, аргументированность выводов, совместное заседание лаборатории оксипинов совместно с лабораторией молекулярной биологии, лабораторией механизмов роста растительных клеток и лабораторией окислительно-восстановительного метаболизма КИББ КазНЦ РАН считает, что диссертация Фатыховой В.С. соответствует и удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05. – физиология и биохимия растений и рекомендуется к защите.

Заключение принято на заседании лаборатории оксипинов совместно с лабораторией молекулярной биологии, лабораторией механизмов роста растительных клеток и лабораторией окислительно-восстановительного метаболизма Федерального государственного бюджетного учреждения науки Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук. Присутствовало на заседании 20 человек. Результаты голосования: «за» - 20 человек, «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 2 от « 31 » августа 2016 г.

Председатель, с.н.с. лаб. оксипинов

 Мухитова Ф.К.

Секретарь н.с. лаб. оксипинов

 Горина С.С.

Подпись   
Заверяю   


Подпись   
Заверяю   
