

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Института физиологии растений  
им. К.А. Тимирязева

Российской академии наук  
чл.-корр. РАН, профессор,  
доктор биол. наук

Д.А. Лось

21 сентября 2022 г.



## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию

Топорковой Яны Юрьевны «Эпоксиалкогольсинтазы клана СYP74 – новые участники липоксигеназного каскада» по специальности 1.5.21. (Физиология и биохимия растений), представленную на соискание ученой степени  
доктора биологических наук.

### Актуальность темы.

Оксилипины являются достаточно обширной группой полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), которые обнаружены во всех таксонах живых организмов. Безусловно, их роль наиболее изучена в животных организмах. Например, у млекопитающих эйказаноиды, продукты окислительных превращений жирных кислот эйказанового ряда, контролируют работу органов пищеварения, сердечно-сосудистой и респираторной систем, воспроизводства, участвуют в воспалительных процессах, анафилаксии, системах иммунного ответа и др. В растительных системах как значение, так и пути их биосинтеза изучены гораздо слабее. Нет сомнений, что оксилипины, как продукты окисления ПНЖК, участвуют во многих важнейших для жизнедеятельности растений процессах, прежде всего, в ответах на всевозможные биотические и абиотические стрессы, где одним из факторов повреждающего действия является окисление жирных кислот, нарушение работы мембранных систем и т.д. При этом установлены связи оксилипинов с такими важными регуляторами роста и развития растений как жасмонаты и брацциностероиды, которые в настоящее время относят к фитогормонам. Поэтому исследования, связанные с ролью оксилипинов в жизни растений, являются чрезвычайно важными и актуальными. Но еще более

животрепещущим вопросом является проблема их биосинтеза. Да, никто не сомневается, что они есть. Но, как и откуда они появляются? Что отвечает за их синтез? Каковы пути их синтеза? Безусловно, далеко не все так плохо и в этой области, хотя белых пятен гораздо больше, чем разрешенных вопросов. Работа Я.Ю. Топорковой в значительной мере позволяет окрасить смыслом эти «белые пятна», чем и обуславливается ее актуальность.

### **Структура и содержание диссертационной работы.**

Диссертационная работа изложена на 438 страницах машинописного текста, содержит, 26 таблиц и 136 рисунков. Она представлена по традиционной структуре, включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, представление результатов и их обсуждение, заключение, выводы, список цитированной литературы, включающий 623 источника, из них 612 – зарубежных, приложения. В работе имеется 136 рисунков, 26 таблиц.

В разделе «**Введение**» обоснована актуальность темы исследования, отражено состояние этой проблемы, представлена цель работы и основные ее задачи. Сообщается об основных положениях диссертации, выносимых на защиту. Отмечена научная новизна, теоретическая и научно-практическая значимость, связь с плановыми исследованиями и научными программами, представлена декларация личного участия докторанта в выполнении работы. Приводятся сведения об апробации результатов диссертации на различных российских и международных конференциях, публикациях, структуре и объеме диссертации. Хочу специально отметить самый высокий уровень представления работы на международных и российских научных мероприятиях.

**Обзор литературы** (глава 1), охватывает широкий круг проблем по проблеме диссертации, написан отличным языком. Детально рассмотрены имеющиеся литературные данные по всем группам оксилипинов, возможных путей их биосинтеза и др. Обзор литературы современен и отражает состояние исследований, имеющих непосредственное отношение к теме диссертационной работы. Литературные данные анализируются квалифицированно, поэтому цель и задачи, поставленные автором работы, адекватны исследуемой проблеме. На мой взгляд, обзор литературы несколько перенасыщен данными, подробностями, которые уводят от основной темы и несколько затрудняют его восприятие. Тем не менее, я бы рекомендовал публикацию литературного обзора в переработанном виде как литературный обзор (простите каламбур) в престижном издании.

Глава 2 посвящена **объектам и методам исследования**. В ней представлен список объектов исследований, которые были использованы при выполнении диссертационной работы. И этот список выглядит весьма впечатляющим! Не часто

встретишь работу, где было использовано 9 (!) объектов. Описаны условия постановки опытов. Представлен широчайший арсенал различных методов и подходов: биоинформатика, физиологических, биохимических, молекулярно-генетических, масс-спектрометрия и др. Применение всех этих методов и подходов вполне оправдано для решения поставленных целей и задач и выполнено на высоком профессиональном уровне.

В главе 3 (**Результаты и обсуждение**) представлены результаты экспериментальной работы и их обсуждение.

На начальном этапе были изучены профили оксилипинов корней и листьев растений огурца, геном которого (подчеркну) расшифрован. Был произведен поиск нуклеотидных и аминокислотных последовательностей представителей клана CYP74, на основании которого были получены рекомбинантные белки и исследованы их свойства. Именно на этой основе и строилось выполнение всей дальнейшей работы.

Не считаю необходимым перечислять и обсуждать полученные результаты. Для этого нужно было бы, по сути, повторить содержание диссертации. Достаточно просмотреть оглавление диссертации, чтобы понять и объем, и качество, и новизну, и значение представленного труда. Эта работа действительно заполняет многие пробелы в биосинтезе оксилипинов. Особенно хочется отметить, что это не в отдельном виде растений, а в целой группе растений, принадлежащих к разным родам и семействам. Это дает основание считать, что полученные результаты не являются частным случаем, но закономерностью, что значительно повышает значимость представленной работы. Все представленные результаты не вызывают сомнений, а их обсуждение корректно и компетентно. Была проделана колossalная экспериментальная работа. Все полученные данные не вызывают сомнений, они оригинальны, а их обсуждение очень корректно.

**Оценка оформления диссертационной работы.** Диссертационная работа Я.Ю. Топорковой написана профессиональным языком, все экспериментальные данные представлены в 26 таблицах и 136 рисунках, включая приложение. Диссертация защищается по специальности 1.5.21 – физиология и биохимия растений, а не по русскому языку и литературе, поэтому мы не будем заострять внимание на мелкие недочеты в орфографии, синтаксисе и форме изложения.

**Степень новизны результатов научных исследований.** Как уже указывалось выше, достаточно просмотреть оглавление диссертации, чтобы понять и объем, и качество, и новизну, и значение представленного труда. Прежде всего, проделан огромный биоинформационный анализ, на основании которого были получены рекомбинантные белки семейства CYP74 из целого ряда растений. Были

идентифицированы и изучены продукты работы этих ферментов. Был проведен анализ взаимосвязи структуры и катализических свойств ферментов CYP74 с помощью сайт-направленного мутагенеза, а также проанализирован филогенез ферментов семейства CYP74.

Эта работа действительно заполняет многие пробелы в наших знаниях о путях биосинтеза оксилипинов.

Особенно хочется отметить, что результаты получены не на отдельном виде растений, а на целой группе растений, принадлежащих к разным родам и семействам. Это дает основание считать, что полученные результаты не являются частным случаем, но закономерностью, что значительно повышает значимость представленной работы.

### **Научная и практическая значимость результатов.**

Научная значимость представленной диссертации не вызывает сомнений. Это действительно серьезный вклад в исследования по данной проблеме, который заполняет многие в пробелы в наших знаниях.

Экспериментальные данные и методические приемы, изложенные в работе, могут быть использованы в учреждениях медицинского, сельскохозяйственного, биологического и биотехнологического профилей, занимающихся получением рекомбинантных ферментов, исследованием взаимосвязи структуры и функций белков, а также в учебном процессе при чтении курсов лекций по биохимии, физиологии растений и молекулярной биологии в ВУЗах.

### **Обоснованность и достоверность заключительных выводов и рекомендаций.**

Использование для исследований широкого спектра растений, относящихся к разным семействам, родам, применение классических и новейших физиологических, биохимических, молекулярно-биологических и масс-спектрометрических методов подтверждает обоснованность и достоверность экспериментальных результатов, представленных в диссертационной работе Я.Ю. Топорковой, а также выносимых на защиту положений и выводов.

**Результаты диссертации рекомендуются для использования** в научно-исследовательских учреждениях биологического и образовательного профиля, занимающихся изучением липидного обмена, его роли в молекулярных механизмах формирования стрессового ответа растений на неблагоприятные факторы окружающей среды, а также для фундаментальных и практических исследований с получением коммерческой прибыли

### **Полнота опубликованности положений и результатов диссертации.**

Основные положения и результаты исследований по диссертации Я.Ю. Топорковой представлены в 22 научных публикациях, которые все представлены в международных реферативных базах данных Web of Science и Scopus.

Результаты исследований апробированы на российских и международных конференциях, список которых внушает большое уважение как к докторантке, так и ее руководителям.

Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

### **Вопросы, замечания и комментарии к диссертационной работе.**

При прочтении диссертации у меня не возникло никаких серьезных вопросов. На мой взгляд, работа выполнена очень серьезно, чисто, логично. Все представленные результаты корректны, выводы соответствуют полученным результатам. Естественно, всегда присутствуют некоторые недоработки, недочеты, но когда представлен столь значительный труд, не думаю, что на это стоит обращать внимание.

### **Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.**

Результаты представленной к защите диссертации свидетельствуют о высокой квалификации ее автора – Яны Юрьевны Топорковой. Следует подчеркнуть, что автором проделана огромная работа. Она выполнена на высоком научно-теоретическом и методическом уровне, отражающем логику реализации конечной цели всей работы – выявление у растений, у которых обнаружены эпоксиспирты – продукты эпоксиалкогольсинтазной активности – ферментов их биосинтеза и изучение их структурно-функциональных свойств.

Докторанткой использованы для исследований классические и новейшие физиологические, биохимические, молекулярно-биологические и массспектрометрические методы Я.Ю. Топоркова эрудированна, хорошо знакома с литературой по теме диссертации. Следует отметить правильность выбранной стратегии исследования и высокую квалификацию исполнения. Все выше изложенное свидетельствует о соответствии соискателя Я.Ю. Топорковой ученой степени, на которую она претендует.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Топорковой Яны Юрьевны «Эпоксиалкогольсинтазы клана CYP74 – новые участники липоксигеназного каскада» по специальности 1.5.21. (Физиология и биохимия растений) на соискание

ученой степени доктора биологических наук является законченной научно-исследовательской работой, имеющей научно-практическое значение для решения вопросов в области физиологии и биохимии растений. По актуальности темы, новизне результатов, их теоретической и практической значимости диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.21 – «Физиология и биохимия растений» (биологические науки), отвечает требованиям пунктов 9–14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями Постановлением Правительства Российской Федерации от 28 августа 2017 года №1024 «О внесении изменений в Положения о присуждении учёных степеней»), а её автор Топоркова Яна Юрьевна заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.21 – «Физиология и биохимия растений» (биологические науки).

Отзыв обсужден на расширенном заседании Отдела молекулярных биосистем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук. Итоги голосования: «за» – единогласно, против и воздержавшихся нет (протокол № 1 от 15 сентября 2022 г.).

Отзыв подготовлен:

доктор биологических наук,  
руководитель отдела физико-химических  
методов исследования

Мошков Игорь Евгеньевич

15 сентября 2022 г.

Организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук.

127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, 35. Тел. +7 (499) 678-54-00;  
факс +7 (499) 678-54-20; e-mail: [ir@ipras.ru](mailto:ir@ipras.ru)