

Сведения о результатах публичной защиты

Смирнова Елена Олеговна

Диссертация «Структурно-функциональные свойства ферментов подсемейства СУР74М плаунка *Selaginella moellendorffii*»

Члены диссертационного совета Д 002.211.02, присутствовавшие на заседании по защите диссертации: д.б.н. Ярмишко В.Т. (удал.), д.б.н. Лянгузова И.В., д.б.н. Андреев М.П., д.б.н. Буданцев А.Л., д.б.н. Горшков В.В. (удал.), д.б.н. Медведев С.С. (удал.), д.б.н. Новожилов Ю.К. (удал.), д.б.н. Потемкин А.Д. (удал), д.б.н. Родионов А.В. (удал.), д.б.н. Сафронова И.Н., д.б.н. Холод С.С., д.б.н. Цыганов В.Е., д.б.н. Шереметьев С.Н. (удал.), д.б.н. Шишова М.Ф. (удал.), д.б.н. Шнеер В.С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.211.02, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ БОТАНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА ИМ. В.Л. КОМАРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 27 января 2021 г. № 134

О присуждении Смирновой Елене Олеговне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Структурно-функциональные свойства ферментов подсемейства СУР74М плаунка *Selaginella moellendorffii*» по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений» принята к защите 21 октября 2020 года, протокол № 130 диссертационным советом Д 002.211.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, дом 2, приказ

Рособрнадзора № 737-465 от 04.04.2008, № 426-214 от 15.03.2010, приказы Минобрнауки России № 194/нк от 22.04.2013, № 153/нк от 15.02.2016, № 403/нк от 10.05.2017; № 409/нк от 12.04.2018, приказ Министерства науки и высшего образования РФ № 175/нк от 02.10.18, приказ № 335/нк от 18.04.2019, приказ № 661/нк от 30.10.2020.

Соискатель Смирнова Елена Олеговна, 1991 года рождения.

В 2013 г. окончила специалитет Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по специальности «Ботаника». В 2016 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений».

Работает младшим научным сотрудником в Казанском институте биохимии и биофизики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории оксипиринов Казанского института биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

Научный руководитель - кандидат биологических наук, ТОПОРКОВА Яна Юрьевна, Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», лаборатория оксипиринов, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

САВЧЕНКО Татьяна Викторовна - доктор биологических наук, Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», ведущий научный сотрудник с возложением обязанностей и.о. заведующего лабораторией фотосинтетического окисления воды;

СОЛОВЧЕНКО Алексей Евгеньевич - доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», кафедра биоинженерии, профессор, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шенякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Безугловым Владимиром Виленовичем, доктором химических наук, профессором, руководителем лаборатории оксипиринов Отдела молекулярной нейроиммунной сигнализации, главным научным сотрудником, указала, что работа освещает актуальную проблему; новизна полученных результатов не вызывает сомнений, в целом работа имеет фундаментальное и практическое значение.

Соискатель имеет 40 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 17, из них в рецензируемых научных изданиях 3 работы, в том числе из Перечня ВАК РФ – 3 статьи, из которых 2 статьи в базах данных Web of Science.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации:

1. Oxylin biosynthesis in spikemoss *Selaginella moellendorffii*: Molecular cloning and identification of divinyl ether synthases CYP74M1 and CYP74M3 /

S.S. Gorina, Y.Y. Toporkova, L.S. Mukhtarova **E.O. Smirnova**, I.R. Chechetkin, B.I. Khairutdinov, Y.V. Gogolev, A.N. Grechkin // BBA– Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2016. – V. 1861. – P. 301–309 (WoS, Scopus).

2. Detection of the first higher plant epoxyalcohol synthase: Molecular cloning and characterisation of the CYP74M2 enzyme of spikemoss *Selaginella moellendorffii* / Y.Y. Toporkova, **E.O. Smirnova**, S.S. Gorina, L.S. Mukhtarova, A.N. Grechkin // Phytochemistry. – 2018. – V. 156. – С. 73–82 (WoS, Scopus).

3. Антимикробная активность геометрических изомеров этеролоеновой кислоты – продуктов липоксигеназного каскада растений / Я.Ю. Топоркова, Е.К. Бессолицына; **Е.О.Смирнова**, С.С. Горина, О.Е. Петрова, Л.Ш.Мухтарова, А.Н. Гречкин // Доклады академии наук – 2018. – V.480. – С. 139-142 (ВАК РФ).

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов от:

1. **Войцеховской Ольги Владимировны** – к.б.н., ведущего научного сотрудника с возложением обязанностей руководителя лабораторией молекулярной и экологической физиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук;
2. **Гилепа Андрея Александровича** – к.х.н., ведущего научного сотрудника Лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии Института биоорганической химии НАН Беларуси.
3. **Даминовой Амины Галеевны** – к.б.н., старшего научного сотрудника Института геологии и нефтегазовых технологий, научно-исследовательской лаборатории «Внутрипластовое горение» Казанского федерального университета.
4. **Минибаевой Фариды Вилевны** – д.б.н., заведующей лабораторией окислительно-восстановительного метаболизма Казанского института биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН.

5. **Тимофеевой Ольги Арнольдовны** – д.б.н., профессора, зав кафедрой и **Прохоренко Нины Борисовны** – к.б.н., доцента кафедры ботаники и физиологии растений института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета.

Все отзывы положительные. В отзывах отмечено, что диссертационная работа является актуальным, оригинальным и законченным исследованием, выполненным на высоком научном уровне с использованием современных физиолого-биохимических и молекулярно-генетических методов. Полученные диссертантом результаты отличаются новизной, научно-теоретической и практической значимостью. Выводы диссертации логично вытекают из обсуждения полученных результатов, аргументированы, убедительны, соответствуют поставленным задачам и базируются на оригинальном материале.

В некоторых отзывах содержатся замечания, пожелания и вопросы.

Войцеховская Ольга Владимировна указывает на то, что автором не обоснован выбор критерия Стьюдента для оценки статистической значимости различий влияния различных концентраций этеролоновых кислот на рост бактерий. Так как проводилось множественные сравнения, то следовало применить дисперсионный анализ либо статистические критерии для множественных сравнений с соответствующей поправкой.

Даминова Амина Галеевна спрашивает, чем был обусловлен выбор спорового растения, такого как *Selaginella moellendorffii*, в качестве объекта для исследования свойств цитохромов P450 подсемейства CYP74? Проводились ли исследования бактерицидного и бактериостатического действия ферментов по отношению к нефитопатогенным бактериям, например, к патогенным штаммам человека или животных?

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Савченко Татьяна Викторовна является специалистом-физиологом и биохимиком растений, имеющим публикации, посвященные изучению сигнальных функций жирных кислот и оксипинов;

Соловченко Алексей Евгеньевич является специалистом-фотофизиологом и биохимиком растений, имеющим публикации в области расшифровки механизмов устойчивости фотоавтотрофных микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды обитания; ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук известна своими достижениями в области молекулярной, структурной и клеточной биологии, биоорганической химии, биофизики, биоинженерии, клеточных технологий, молекулярных основ прижизненного биоимиджинга, редактирование генома, биоинформатики, что позволило организации определить научную и практическую значимость диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: впервые были клонированы гены и охарактеризованы соответствующие рекомбинантные ферменты подсемейства CYP74M плаунка *Selaginella moellendorffii*; установлено, что рекомбинантные ферменты CYP74M1 и CYP74M3 являются 13-специфичными дивинилэфирсинтазами (ДЭС), а рекомбинантный фермент CYP74M2 является 13-специфичной эпоксиалкогольсинтазой; показано, что (ω 5Z)-этеролоновая кислота обладает бактерицидными свойствами в отношении клеток фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris* ssp. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* ssp. *tomato*, *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043; этеролоновая и (11Z)-этеролоновая кислоты – бактериостатическими свойствами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказаны положения, создающие основу для лучшего понимания происхождения ферментов CYP74 у растений и углубления знаний о механизмах регуляции метаболических процессов в растениях в процессе роста и развития; применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс

методов биоинформатики, молекулярной биологии, биохимии и биофизики; показано, что ферменты CYP74M1 и CYP74M3 являются первыми дивинилэфирсинтазами, а фермент CYP74M2 – первой эпоксиалкогольсинтазой, обнаруженными у споровых растений. Фермент CYP74M2 является первой истинной растительной эпоксиалкогольсинтазой; доказано, что предпочтительными субстратами исследуемых ферментов являются 13-гидроперекиси линолевой и α -линоленовой кислот; установлено, что соотношение продуктов реакций, катализируемых ферментами CYP74M1 и CYP74M3, отличается от таковых других 13-специфичных ДЭС; **показано**, что фермент CYP74M1 является первой охарактеризованной ДЭС, которая катализирует превращение 13-гидроперекисей линолевой и α -линоленовой кислот в (11Z)- изомеры этеролеовой и этеролоеновой кислот соответственно.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: были разработаны системы получения и препаративной очистки цитохромов P450, которые в соединении с липоксигеназами могут обеспечить эффективное производство новых природных средств защиты растений; представлены данные о бактерицидных и бактериостатических свойствах дивиниловых эфиров: этеролоеновой, (11Z)-этеролоеновой и (ω 5Z)-этеролоеновой кислот; охарактеризованы ферменты, катализирующие образование этих дивиниловых эфиров; основные научные результаты и выводы диссертационной работы могут быть использованы при чтении курсов лекций для студентов биологических, экологических и сельскохозяйственных специальностей, а также могут быть использованы в учреждениях, занимающихся получением рекомбинантных ферментов, исследованием взаимосвязи структуры и функций белков.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ использовалось сертифицированное оборудование, подтверждена воспроизводимость результатов исследования в различных условиях; теория построена с учетом известных данных и фактов о структуре и функциях ферментов семейства CYP74 цитохромов P450, их субстратной

специфичности, распространении и внутриклеточной локализации, продуктах каталитического действия данных ферментов – оксипипинах и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации; основная научная идея базируется на анализе имеющихся в литературе сведений и авторского оригинального материала; установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда сравнение является обоснованным.

Личный вклад соискателя состоит в планировании и проведении экспериментальной работы, в статистической обработке, анализе, обобщении и интерпретации полученных данных, а также представлении результатов на научных конференциях. Диссертация написана автором самостоятельно.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследований, непротиворечивой методологической платформы, следованием основной идейной линии, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация «Структурно-функциональные свойства ферментов подсемейства СУР74М плаунка *Selaginella moellendorffii*» представляет собой научно-квалификационную работу, соответствует критериям, установленным Положением п. 9 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 27 января 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Смирновой Е.О. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 15 человек (7 - очно, 8 - удаленно), из них 7 докторов биологических наук (3 – очно, 4 – удаленно) по специальности 03.01.05 –

«Физиология и биохимия растений», участвующих в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за 15, против 0.

Председатель

диссертационного совета

Шнеер Виктория Семеновна

Ученый секретарь

диссертационного совета



Лянгузова Ирина Владимировна

27 января 2021 г.