

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Ефимовой Веры Сергеевны

«Реконструкция энзиматической холестерингидроксилазной/лиазной системы быка в гетерологичных клетках», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Диссертационная работа Ефимовой Веры Сергеевны посвящена реконструкции монооксигеназной холестерингидроксилазной/лиазной (ХГЛ) системы в гетерологичных клетках и изучению особенностей функционирования данной системы в клетках разных организмов. Данная энзиматическая система катализирует первую стадию стероидогенеза млекопитающих. Ввиду того, что стероидные гормоны контролируют в организме млекопитающих многие жизненно важные функции и, как следствие, широко используются в медицине, тема, затронутая в работе, несомненно, является актуальной.

В рамках проведенного исследования были получены штаммы бактерии *E. coli*, дрожжей *S. cerevisiae* и *Yarrowia lipolytica* и клетки человека линии НЕК293Т с реконструированной ХГЛ системой быка. С использованием полученных рекомбинантных клеток *E. coli* были исследованы мутированные версии белков-компонентов ХГЛ системы – цитохрома P450_{ssc} и аденодоксина – и дана оценка их активности. Была продемонстрирована принципиальная возможность использования саморасщепляющихся вирусных пептидов 2А для совместной продукции белков многокомпонентной ферментной системы в клетках дрожжей и млекопитающих. Штамм дрожжей *Y. lipolytica*, полученный в работе, обеспечивал превращение холестерина в прегненолон *in vivo* и характеризовался высокой активностью реконструированной ХГЛ системы.

Полученные трансгенные микроорганизмы и линия клеток человека НЕК293Т могут быть использованы в дальнейшем как для фундаментальных исследований с целью изучения структуры и функционирования белков-компонентов ХГЛ системы, модификации белков для оптимизации функционирования системы, так и, при дальнейшей доработке, для целей биотехнологии. Кроме того, ввиду высокого структурного сходства молекул различных цитохромов P450, разработанные методики реконструкции могут использоваться для воссоздания других монооксигеназных систем цитохромов P450 в клетках человека и различных микроорганизмов.

Результаты, полученные в работе, были опубликованы в 4 статьях в профильных зарубежных научных изданиях, что также указывает на высокий уровень проведенного исследования и актуальность исследуемой темы.

При прочтении автореферата возникло единственное замечание: отсутствует информация о специфичности использованных антител против P450_{scc}, Adx и AdR быка в отношении белков человека, поэтому неясно, можно ли говорить об отсутствии эндогенных белков Adx и AdR в клетках человека линии HEK293T. Однако это замечание не влияет на общее хорошее впечатление от работы, которая представляет собой грамотно оформленное законченное научное исследование.

Диссертационная работа Ефимовой Веры Сергеевны «Реконструкция энзиматической холестерингидроксилазной/лиазной системы быка в гетерологичных клетках» полностью удовлетворяет требованиям, установленным в Положении о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова, а её автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - «молекулярная биология».

Доктор биологических наук
(специальность 03.01.03. – «Молекулярная биология»),
профессор, член-корреспондент РАН,
заведующий лабораторией регуляции
внутриклеточного протеолиза
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки
Института молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук
(ИМБ РАН)

ВОВИЧ

119991, Москва, ул. Вавилова, 32
Тел. 8-499-135-99-33
Адрес эл почты: karpov@eimb.ru



20.06.2019 г.