

Заключение диссертационного совета МГУ.03.01
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «06» июня 2019 г. № 5

О присуждении **Ефимовой Вере Сергеевне**, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Реконструкция энзиматической холестерингидроксилазной/лиазной системы быка в гетерологичных клетках» по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология» принята к защите диссертационным советом 04.04.2019, протокол № 2.

Соискатель **Ефимова Вера Сергеевна** 1990 года рождения, в 2013 году окончила биологический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «биохимия». С 2013 по 2017 г. соискатель обучалась в очной аспирантуре по специальности «молекулярная биология». Соискатель в данный момент не работает.

Диссертация выполнена на кафедре молекулярной биологии Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова и в отделе молекулярных основ онтогенеза НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова.

Научные руководители: доктор биологических наук **Новикова Людмила Александровна**, ведущий научный сотрудник лаборатории топогенеза белков отдела молекулярных основ онтогенеза НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова;

кандидат биологических наук **Рубцов Михаил Александрович**, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии кафедры молекулярной биологии Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Официальные оппоненты:

Вейко Владимир Петрович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной инженерии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»;

Калинина Наталья Олеговна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела биохимии вирусов растений НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова;

Гаврилов Алексей Александрович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель Группы пространственной организации генома Федерального

государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена» РАН, дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 9 работ, из них 4 статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

1. Efimova V.S., Isaeva L.V., Rubtsov M.A., Novikova L.A. Analysis of *in vivo* activity of the bovine cholesterol hydroxylase/lyase system proteins expressed in *Escherichia coli*.// Molecular Biotechnology. 2019. V.61, №4, p.261-273.
2. Glyakina A.V., Strizhov N.I., Karpov M.V., Dovidchenko N.V., Matkarimov B.T., Isaeva L.V., Efimova V.S., Rubtsov M.A., Novikova L.A., Donova M.V., Galzitskaya O.V. Ile351, Leu355 and Ile461 residues are essential for catalytic activity of bovine cytochrome P450_{scc} (CYP11A1).// Steroids. 2019. V.143, p.80-90.
3. Efimova V.S., Isaeva L.V., Labudina A.A., Tashlitsky V.N., Rubtsov M.A., Novikova L.A. Polycistronic expression of the mitochondrial steroidogenic P450_{scc} system in the HEK293T cell line.// Journal of Cellular Biochemistry. 2019. V.120, №3, p.3124-3136.
4. Efimova V.S., Isaeva L.V., Makeeva D.S., Rubtsov M.A., Novikova L.A. Expression of cholesterol hydroxylase/lyase system proteins in yeast *S. cerevisiae* cells as a selfprocessing polyprotein.// Molecular Biotechnology. 2017. V.59, №9-10, p.394-406.

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные, замечания носят редакционный характер.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их высокой компетентностью в области молекулярной биологии и наличием публикаций в высокорейтинговых журналах.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований получены новые данные об особенностях функционирования холестерингидроксилазной/лиазной (ХГЛ) системы, а также выполнена оптимизация функционирования системы в живых клетках микроорганизмов и человека. В работе был подобран подходящий для реконструкции ХГЛ системы штамм метилотрофных дрожжей *Yarrowia lipolytica*, обеспечивающий синтез предшественника всех стероидных веществ - прегненолона - с высокой эффективностью.

В работе Ефимовой В.С. был изучен новый метод совместной продукции гетерологичных белков с использованием саморасщепляющихся вирусных пептидов 2А, применение которых позволяет сократить количество генно-инженерных манипуляций, необходимых для получения рекомбинантных штаммов микроорганизмов. Полученные в работе результаты, несомненно, имеют теоретическую и практическую ценность.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Штаммы дрожжей и клетки человека с реконструированной функционально активной ХГЛ системой быка могут быть получены с использованием кДНК, кодирующей саморасщепляющийся полипротеин, включающий белки ХГЛ системы и пептид 2А вируса ящура.

2. Клетки рекомбинантного штамма дрожжей *Y. lipolytica* с реконструированной ХГЛ системой быка способны осуществлять эффективную биотрансформацию холестерина *in vivo*.

3. Присутствие на С-конце цитохрома P450_{scs} дополнительных 18 аминокислот, происходящих из 2А-пептида, не препятствует проявлению его каталитической активности.

4. Эффективность расщепления 2А-содержащего полипротеина СНL-2А и локализация образующихся белков в эукариотических клетках дрожжей *S. cerevisiae* и клетках НЕК293Т не зависят от типа клеток, а определяются аминокислотной последовательностью полипротеина.

На заседании 06.06.2019 диссертационный совет принял решение присудить Ефимовой В.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них докторов наук по специальности «вирусология» 7 человек, по специальности «молекулярная биология» 6 человек, участвовавших в заседании, из 17 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 13, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета, д.б.н., проф.

Аграновский А.А.

Ученый секретарь
диссертационного совета, д.б.н.

Комарова Т.В.

06.06.2019