

УТВЕРЖДАЮ:

Генеральный директор

АО «Научно-исследовательского

Института Аджиномото-Генетика»



[Handwritten signature]

Рыбак К.В.

[Handwritten date]

2020 г

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

межлабораторного семинара АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика»

Диссертационная работа Софьянович Ольги Александровны «Изучение генетических основ синтеза γ -глутамильных ди- и трипептидов в *Saccharomyces cerevisiae* на примере γ -глутамил-валина и γ -глутамил-валил-глицина» выполнена в лаборатории №2 АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика».

В период подготовки диссертации и по настоящее время соискатель Софьянович О. А. работает в должности младшего научного сотрудника в АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика».

В 2007 г. Софьянович О. А. окончила Белорусский государственный университет, биологический факультет, кафедру микробиологии по специальности «Микробиология».

С 2010 г. по 2013 г. Софьянович О. А. являлась соискателем при ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов». По итогам обучения были сданы кандидатские экзамены, в 2011 г. - «Иностранный язык (английский)» и «История и философия науки», в 2019 г. - «Генетика».

Научный руководитель – старший научный сотрудник АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика», Серебряный Всеволод Александрович, к.б.н.

По итогам обсуждения результатов исследований, включенных в диссертационную работу «Изучение генетических основ синтеза γ -глутамильных ди- и трипептидов в *Saccharomyces cerevisiae* на примере γ -глутамил-валина и γ -глутамил-валил-глицина», на межлабораторном семинаре АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика» принято следующее **заключение**:

Актуальность исследования:

γ -Глутамильные соединения – это разнородная группа веществ, в которых остаток L-глутамата через γ -карбоксыльную группу присоединен к акцептору. Акцепторами могут быть аминокислоты, короткие пептиды и другие соединения. Глутатион (GSH) – является первым известным γ -глутамильным пептидом, который был обнаружен в дрожжевом экстракте. В последнее время к γ -глутамильным соединениям появился особо высокий интерес в связи с их участием во вкусовой рецепции. В 2010 году было показано, что агонистами кальций-чувствительного рецептора человека CaCR являются 46 γ -глутамильных пептидов, среди которых, γ -глутамил-валил-глицин (γ -EVG) имел самую высокую сенсорную активность. Исследование путей образования γ -глутамильных пептидов, и, в частности, γ -EVG, представляется важной практической задачей и использование *S. cerevisiae* в качестве штамма-продуцента выглядит перспективно, так как экстракт этих дрожжей широко используется в качестве вкусовой добавки. Помимо практического значения, изучение биосинтеза γ -глутамильных пептидов позволяет получить новую информацию о свойствах ферментов, участвующих в метаболизме GSH, так как часто эти соединения образуются в живых тканях как побочные продукты метаболизма GSH.

Научная новизна и практическая значимость исследования

В рамках настоящей диссертационной работы автором был разработан генетический инструментарий, позволяющий многократную «бесшовную» замену промоторных областей целевых генов *S. cerevisiae*.

Впервые изучены пути биосинтеза γ -глутамильных трипептидов, аналогов GSH, в клетках *S. cerevisiae*, на примере трипептида γ -EVG, обладающего ценными вкусовыми свойствами. Показано, что добавление дипептидов γ -глутамил-валина (γ -EV) и валил-глицина (VG), или свободных аминокислот, валина и глицина, в среду культивирования повышает синтез γ -EVG. Продемонстрировано, что за образование γ -EV и γ -EVG в клетках *S. cerevisiae* отвечают гены синтеза и деградации GSH.

Впервые получены данные, указывающие на то, что отщепляющий γ -глутамильную группу GSH комплекс (Dug2-Dug3)₂, участвует в переносе γ -глутамильной группы на VG и валин.

Впервые продемонстрировано, что ген *DUG1*, кодирующий пептидазу, специфичную к цистеинил-глицину, отвечает за деградацию дипептида VG.

Впервые продемонстрировано, что ген *HGT1*, кодирующий импортер олигопептидов и глутатиона, отвечает за транспорт γ -EVG внутрь клетки.

Показано, что сверхэкспрессия генов синтеза глутатиона, *GSH1* и *GSH2*, приводит к увеличению синтеза γ -EVG у *S. cerevisiae*.

Достоверность результатов проведенного исследования

Диссертационная работа является завершенной работой, выполненной на высоком методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических методов. Научные положения и выводы диссертации логично вытекают из полученных экспериментальных данных и являются полностью обоснованными. Достоверность результатов работы подтверждена публикациями в рецензируемых научных журналах.

Соответствие диссертационной работы избранной специальности

Диссертационная работа соискателя Софьянович О.А. представлена к защите по специальности 03.02.07 – генетика, что полностью соответствует содержанию выполненной работы.

Личный вклад соискателя

Все основные результаты получены лично автором, либо при его участии в планировании и проведении экспериментов. Количественное измерение пептидов γ -EVG, γ -EV и VG в исследуемых штаммах проводилось с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на коммерческой основе в ЦКП научно-исследовательского института биомедицинской химии им. Ореховича и аналитической группой АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика». Анализ образцов, содержащих GSH, проводился методом ВЭЖХ аналитической группой АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика». Эксперимент по изменению транскрипции методом ПЦР в реальном времени был проведен совместно с научным руководителем к.б.н. Серебряным В.А. Исследование по поиску пептидаз, способных расщеплять VG, было проведено совместно с коллегами из научной лаборатории компании «Аджиномото Ко. Инк.» в Кавасаки (Япония).

Ценность научных работ соискателя и полнота изложения материалов диссертации в них

Полученные Софьянович О.А. результаты обладают высоким уровнем научной значимости. Они важны для понимания механизмов и путей образования γ -глутамильных пептидов в *S. cerevisiae*. Полученный в работе генетический инструментарий, расширяет возможности для конструирования штаммов-продуцентов для пищевой промышленности.

Основные результаты, представленные в диссертационной работе, изложены автором в следующих печатных работах:

1. Нисиути Х., Хосино В., Мизукоши Т., Серебряный В.А., **Софьянович О.А.** и Чешев Д.А. Дрожжевой экстракт, содержащий гамма-Glu-X или гамма-Glu-X-Gly, и способ его получения. RU 2496864 C2 (Дата подачи заявки №2010127403: 05.07.2010).

2. **Sofyanovich O.A.**, Nishiuchi H., Yamagishi K., Maekawa K., Serebryanyi V.A. (2011). A new method for repeated "self-cloning" promoter replacement in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol Biotechnol. 48(3): 218-27.
3. **Sofyanovich O.A.**, Nishiuchi H., Yamagishi K., Matrosova E.V., Serebryanyi V.A. (2019). Multiple pathways for the formation of the γ -glutamyl peptides γ -glutamyl-valine and γ -glutamyl-valyl-glycine in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS One. 14(5): e0216622.

На основании вышеизложенного, участники межлабораторного семинара АО «Научно-исследовательского Института Аджиномото-Генетика» постановили:

Диссертация Софьянович О.А. «Изучение генетических основ синтеза γ -глутамильных ди- и трипептидов в *Saccharomyces cerevisiae* на примере γ -глутамил-валина и γ -глутамил-валил-глицина» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным работам, и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Заключение принято на межлабораторном заседании АО «Научно-исследовательского института Аджиномото-Генетика» 18.05.2020 г. На заседании присутствовало 33 человека, в том числе 17 к.б.н и 4 д.б.н

Председатель межлабораторного семинара,
к.б.н., доцент,
заместитель директора по научной работе
АО «Научно-исследовательского института
Аджиномото-Генетика»
Закатаева Н.П.

