

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.214.01 НА
БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ОБЩЕЙ ГЕНЕТИКИ ИМ. Н.И.
ВАВИЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 16.03.2021 протокол № 2

О присуждении Софьянович Ольге Александровне, гражданке РФ, ученой
степени кандидата биологических наук

Диссертация «Изучение генетических основ синтеза γ -глутамильных ди- и трипептидов в *Saccharomyces cerevisiae* на примере γ -глутамил-валина и γ -глутамил-валил-глицина» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите «14» января 2021 г., протокол № 1, диссертационным советом Д 002.214.01. на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3, приказ Минобрнауки РФ №105/нк от 11.04.2014.

Соискатель Софьянович Ольга Александровна, гражданка РФ, 1979 года рождения, в 2007 году окончила Белорусский государственный университет, биологический факультет, кафедру микробиологии по специальности «Микробиология».

Диссертация Софьянович Ольги Александровны выполнена в Акционерном Обществе «научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика» (АО «АГРИ»).

В период подготовки диссертации с 2010 и по настоящее время Софьянович О. А. работает в должности младшего научного сотрудника в АО «АГРИ».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано 15 сентября 2020 года Федеральным государственным бюджетным учреждением «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», к которому Софьянович О.А. была прикреплена в качестве соискателя для сдачи кандидатских экзаменов.

Научный руководитель диссертационной работы – Серебряный Всеволод Александрович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник АО «АГРИ», г. Москва.

Официальные оппоненты:

Манухов Илья Владимирович - доктор биологических наук (специальность 03.02.07 – генетика), заведующий лабораторией молекулярной генетики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», г. Москва.

Лавров Константин Валерьевич - кандидат биологических наук (специальность 03.02.07 - генетика), начальник лаборатории молекулярной биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика), г. Москва.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы. Высказаны замечания и комментарии. Ряд замечаний носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания и комментарии представлены в стенограмме заседания.

Ведущая организация: Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы

биотехнологии» Российской академии наук», (ФИЦ Биотехнологии РАН), г. Москва, в своем положительном заключении, подписанным Мардановым Андреем Владимировичем, доктором биологических наук по специальности – 03.01.03 - Молекулярная биология, главным научным сотрудником лаборатории геномики микроорганизмов и метагеномики ФИЦ Биотехнологии РАН, указано, что диссертационная работа по своему содержанию, уровню выполнения научных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов полностью соответствует всем требованиям ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертация является законченной квалификационной работой, выполненной на актуальную тему на высоком методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических методов. Научная и практическая значимость не вызывает сомнений. Диссертация в целом не вызывает серьезных замечаний. Высказанные замечания не являются принципиальными, в основном носят дискуссионный характер и не снижают общей высокой оценки работы. Ответ на отзыв представлен в стенограмме заседания.

Соискатель имеет 2 публикации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях и 1 патент.

Публикации в научных журналах:

1. 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.
2. 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.

Патент:

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).

На автореферат диссертации отзывы прислали:

1. Стрельцова Дарья Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник АО «АГРИ». Отзыв положительный без замечаний.
2. Болтянская Юлия Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник ФИЦ Биотехнологии РАН. Есть небольшие замечания. Ответы на замечания приведены в стенограмме заседания.

Выбор официальных оппонентов определяется их большим опытом в области молекулярной генетики, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы.

Выбор ведущей организации обосновывается высоким уровнем проводимых в ней исследований в области прикладной генетики и молекулярной биологии, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Диссертационный совет отмечает, что соискателем создан генетический инструментарий для многократной замены промоторов целевых генов для получения штаммов *S. cerevisia*, не содержащих чужеродной ДНК. Определены пути образования γ -глутамильных пептидов в *S. cerevisiae* на примере дипептида γ -глутамил-валина и трипептида γ -EVG

Научная значимость исследования заключается в том, что впервые изучен биосинтез γ -глутамильных пептидов на примере трипептида γ -EVG и дипептида γ -EV в клетках *S. cerevisiae*.

Впервые показано, что за синтез γ -EVG из предшественника γ -EV отвечает ген *GSH2*, кодирующий глутатионсинтетазу (GS). В свою очередь, γ -EV может образовываться двумя путями. За реализацию первого пути отвечает ген *GSH1*, кодирующий γ -глутамил-цистеин лигазу (GCL). За синтез γ -EV по второму пути отвечают гены *DUG2* и *DUG3*, кодирующие комплекс белков (Dug2-Dug3)₂, и/или *ECM38*, кодирующий γ -глутамилтрансферазу (GGT).

Впервые получены данные, показывающие, что синтез γ -EVG из предшественника VG осуществляется в результате переноса γ -глутамильной группы глутатиона комплексом белков (Dug2-Dug3).

Впервые установлено, что за деградацию VG отвечает ген *DUG1*, кодирующий белок Dug1, ранее аннотированный как дипептидаза, расщепляющая цистеинил-глицин (CG).

Впервые продемонстрирована возможность увеличения синтеза γ -EVG с помощью усиления транскрипции генов *GSH1* и *GSH2*, отвечающих за синтез глутатиона.

Впервые выявлено, что за импорт γ -EVG отвечает ген *HGT1*, кодирующий транспортер олигопептидов и GSH в *S. cerevisiae*.

Также создан генно-инженерный инструментарий, позволяющий проводить многократную замену промоторов целевых генов с получением штаммов *S. cerevisiae*, не содержащих чужеродной ДНК.

Значение полученных соискателем результатов для практики заключается в выяснении генетических основ синтеза γ -глутамильных пептидов, в частности γ -EVG, в *S. cerevisiae*. Полученные результаты важны в определении направления исследований для создания штаммов-продуцентов *S. cerevisiae* новых и эффективных γ -глутамильных пептидов, позволяющих улучшить вкусовые свойства пищи. Использование в качестве объекта исследования *S. cerevisiae* выглядит перспективно, так как экстракт

этих дрожжей широко применяется в качестве вкусовой добавки в пищевой промышленности.

Оценка достоверности результатов исследований: обоснованность и достоверность полученных результатов, сделанных выводов подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, корректностью методологии исследований, адекватностью методики и методов исследования поставленным задачам, широким применением молекулярно-генетических методов. Научные положения и выводы диссертации логично вытекают из полученных экспериментальных данных и являются полностью обоснованными. Достоверность полученных результатов подтверждается их публикацией в рецензируемых научных изданиях.

Личной вклад соискателя заключается в его непосредственном участии в получении основных результатов, изложенных в диссертации, либо в планировании и проведении экспериментов. Количественное измерение пептидов γ -EVG, γ -EV и VG в исследуемых штаммах проводилось с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии сопряженной с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ/МС/МС) на коммерческой основе в Центре коллективного пользования «Протеом человека» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ) и частично при участии аналитической группы АО «АГРИ». Анализ образцов, содержащих GSH, проводила аналитическая группа АО «АГРИ» с помощью метода ВЭЖХ. Эксперимент по изменению транскрипции методом ПЦР в реальном времени проведен совместно с научным руководителем к.б.н. Серебряным В.А. Поиск пептидаз, способных расщеплять пептид VG, проведен совместно с коллегами из научной лаборатории компании «Аджиномото Ко. Инк.» в городе Кавасаки (Япония).

Диссертация полностью соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 23 сентября 2013 г.

На заседании 16 марта 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Софьянович Ольге Александровне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 15 докторов наук по специальности 03.02.07 - генетика, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 15 человек, против – нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета  Захаров-Гезехус И.А.

Ученый секретарь диссертационного совета  Горячева И.И.

«16» марта 2021 года

Подписи Захарова-Гезехуса И.А. и Горячевой И.И. удостоверяю

Ученый секретарь ИОГЕн РАН

Абилев С.К.

