

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.001.01 созданного на
базе ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В
СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 23.12.2021 г. № 27

О присуждении Беленькой Светлане Валерьевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Свойства рекомбинантного химозина алтайского марала (*Cervus canadensis sibiricus*)» по специальности 1.5.3 – молекулярная биология принята к защите 18.10.2021 г. (протокол заседания № 21) диссертационным советом 64.1.001.01, созданным на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, приказ от 12.04.2018 № 403/нк, изменения от 08.02.2021 г. № 111/нк.

Соискатель Беленькая Светлана Валерьевна, 1993 года рождения, в 2017 окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», по специальности «Биология».

В 2021 году соискатель освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», работает младшим научным сотрудником в отделе биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Диссертация выполнена в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Научный руководитель – Щербаков Дмитрий Николаевич, кандидат биологических наук, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Гончар Данила Александрович кандидат биологических наук, ООО «СибЭнзайм», заместитель директора по производству;

Меркулова Татьяна Ивановна доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, главный научный сотрудник лаборатории регуляции экспрессии генов

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук г. Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанном Трифоновым Владимиром Александровичем, доктором биологических наук, заведующим лаборатории сравнительной геномики и утвержденном Демаковым Сергеем Анатольевичем, доктором биологических наук, директором ФГБУН ИМКБ СО РАН, указала, что проведенная научная экспертиза диссертации, автореферата и списка опубликованных работ Беленькой Светланы Валерьевны «Свойства рекомбинантного химозина алтайского марала (*Cervus canadensis sibiricus*)», представленных на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, даёт основание положительно оценить рецензируемое исследование с точки зрения актуальности, степени обоснованности научных положений и выводов, степени их достоверности и новизны. Основные идеи исследования ясно выражены, выводы соответствуют полученным данным, а результаты раскрыты достаточно подробно для свободного прочтения специалистом широкого профиля. Значительная часть работы опубликована в журналах и обсуждена на научных конференциях. Представленная работа по своей актуальности, научной новизне, теоретической значимости результатов полностью отвечает требованиям «Положения о присуждении научных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к

кандидатским диссертациям, а ее автор Беленькая С.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 5 статей по теме диссертации, которых входят в перечень ВАК и международные научные базы. Помимо этого, автор имеет 3 патента РФ по теме диссертации.

1. Belenkaya S.V., Bakulina A.Y., Ilyichev A.A., Shcherbakov D.N., Kurgina T.A., Rukhlova E.A., Bondar A.A., Lavrik O.I., Elchaninov V.V. Characterization of the altai maral chymosin gene, production of a chymosin recombinant analog in the prokaryotic expression system, and analysis of its several biochemical properties // Biochemistry (Moscow). - 2020. - Vol. 85. - № 7. - P. 781-791.

2. Belenkaya S.V., Shcherbakov D.N., Balabova D.V., Belov A.N., Koval A.D., Elchaninov V.V. Basic biochemical properties of recombinant chymosins (review) // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2020. - Vol. 56. - № 4. - P. 363-372.

3. Belenkaya S.V., Shcherbakov D.N., Balabova D.V., Belov A.N., Koval A.D., Elchaninov V.V. Production of maral (*Cervus elaphus sibiricus severtzov*) recombinant chymosin in the prokaryotic expression system and the study of the aggregate of its biochemical properties relevant for the cheese-making industry // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2020. - Vol. 56. - № 6. - P. 647-656.

4. Беленькая С.В., Ельчанинов В.В., Щербаков Д.Н. Разработка продуцента рекомбинантного химозина марала на основе дрожжей *Kluyveromyces lactis* // Биотехнология. - 2021. - Т. 37. - № 5. - С. 05-17

5. Belenkaya S.V., Rudometov A.P., Shcherbakov D.N., Balabova D.V., Kriger A.V., Belov A.N., Koval A.D., Elchaninov V.V. Biochemical properties of recombinant chymosin in alpaca (*Vicugna pacos* l.) // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2018. - Vol. 54. - № 6. - P. 569-576.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

-от д-ра тех. наук, проф. Мусиной О.Н. (ФГБНУ ФАНЦА руководитель «Сибирского научно-исследовательского института сыроделия») – отзыв положительный, содержит одно замечание: «В автореферате отсутствует обоснование изучения именно этого перечня свойств из всех, имеющихся у

рекомбинантного химозина алтайского марала»; от канд. биол. наук Некрасовой Н.А. (АО «Вектор-Бест», старший научный сотрудник лаборатории генно-инженерной технологии) – отзыв положительный, содержит одно замечание: «Отсутствие расширенных подписей к некоторым рисункам. Так на рисунке 3 не указано место встройки целевого гена»; от канд. тех. наук, доц. Скибы Е.А. (Бийский технологический институт (филиал) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», научный секретарь) – отзыв полностью положительный; от канд. хим. наук, Колосова П.В. (ООО «ВакБиоЛаб», научный сотрудник) – отзыв положительный, содержит одно замечание «Автор констатирует факт различия свойств химозинов, полученных в разных системах экспрессии, но не анализирует причины возникновения такого различия. Очевидно, что у обоих ферментов идентичная первичная структура и факт различия свойств представляет серьезный фундаментальный интерес»; от канд. биол. наук Баева Д.С. (Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории фармакологических исследований) – отзыв полностью положительный.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в области молекулярной биологии, большим количеством публикаций в этой области, высоким профессионализмом и согласием на оппонирование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны экспрессионные векторы, обеспечивающие наработку рекомбинантного фермента в про- и эукариотических системах продукции;
предложен способ двухэтапной сборки плазмидного интеграционного вектора pSVB;
доказано что рекомбинантные продуценты на основе бактерий *E.coli* и дрожжей *K.lactis* обеспечивают синтез прохимозина алтайского марала;

определена полная нуклеотидная последовательность гена химозина алтайского марала, установлена его структурная организация;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что определенная полная нуклеотидная последовательность гена химозина алтайского марала, депонированная в GenBank, принадлежит к подвид благородного оленя;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе экспериментальных методик;

изложены доказательства экзон/интронной организации гена химозина алтайского, позволившие провести реконструкцию последовательности его мРНК;

раскрыты данные о способности сконструированных экспрессионных векторов, обеспечивать наработку рекомбинантных ферментов в системе *Escherichia coli* и *Kluyveromyces lactis*;

изучены основные биохимические и технологические свойства химозина алтайского марала;

проведена модернизация существующего метода получения активного прохимозина из телец включения *Escherichia coli*;

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан и внедрен в практику лаборатории иммунохимии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора вектор pSVB, востребованный для создания высокоэффективных дрожжевых продуцентов рекомбинантных белков;

определены перспективы практического использования рекомбинантного аналога химозина алтайского марала в молочной промышленности для производства сыров;

создан дрожжевой продуцент химозина алтайского марала;

представлены данные о молокосвертывающей активности полученных препаратов рекомбинантного химозина алтайского марала.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании;

теория согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

идея работы базируется на анализе научных публикаций о разработке про- и эукариотических продуцентов рекомбинантных химозинов;

использованы данные 130 научных работ для составления литературного обзора и сопоставления с ними полученных автором результатов;

установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные биохимические, генно-инженерные, биоинформатические и статистические методы.

Личный вклад соискателя состоит в следующем:

выделение геномной ДНК алтайского марала, конструирование рекомбинантных плазмид, получение штаммов продуцентов на основе *E.coli* и *K.lactis*, выделение и очистка рекомбинантного прохимозина алтайского марала. Секвенирование, установление экзон/интронной организации и реконструирование последовательности мРНК гена препрохимозина алтайского марала проводилось автором совместно с Бондарем А.А. Оптимизация нуклеотидной последовательности для экспрессии в системе *E.coli* и *K.lactis*, дизайн рекомбинантных векторов, обеспечивающих экспрессию искусственных генов в системе *E.coli* и *K.lactis*, проводилась автором совместно с Щербаковым Д.Н. Определение молокосвертывающей активности, термостабильности, зависимости молокосвертывающей активности от pH и концентрации катионов кальция, определение константы Михаэлиса-Ментен для полученных ферментов проводилась автором совместно с Кургиной Т.А. и Ельчаниновым В.В.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Беленькая С.В. аргументировано ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 23 декабря 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Беленькой С.В. ученую степень кандидата биологических наук **за решение научной задачи**, связанной с получением рекомбинантного прохимозина

алтайского марала и изучением комплекса его биохимических свойств важных для практического сыроделия

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 4 доктора наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, биологические науки, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 19 , против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Агафонов Александр Петрович

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук
23.12.2021 г.

Непомнящих Татьяна Сергеевна

