



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32
www.fbras.ru, info@fbras.ru

31 января 2023 № 85-01-19/97

На №

от

УТВЕРЖДАЮ:

Директор
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук» д.б.н.
Фёдоров А.Н.
2023 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» на диссертационную работу Сековой В.Ю. «Основные физиолого-биохимические и молекулярные аспекты адаптации к стрессовым факторам у дрожжей *Yarrowia lipolytica*»

Диссертационная работа «Основные физиолого-биохимические и молекулярные аспекты адаптации к стрессовым факторам у дрожжей *Yarrowia lipolytica*» выполнена на базе лаборатории эволюционной и экологической биохимии Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». В период подготовки диссертационной работы соискатель Секова Варвара Юрьевна обучалась в очной аспирантуре ФИЦ Биотехнологии РАН, а затем – работала на должности младшего научного сотрудника.

С мая 2012 г. по апрель 2017 г. Секова В.Ю. исполняла обязанности младшего научного сотрудника в Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН, после чего по конкурсу была избрана на должность младшего научного сотрудника, на которой проработала с мая 2017г. по ноябрь 2021 г. В ноябре 2012 г. Секова В.Ю. поступила в очную аспирантуру Института Биохимии им. А.Н. Баха РАН (с 2015 г. – Федеральное государственное учреждение

«Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»), которую закончила в ноябре 2016 г. В настоящее время Секова В.Ю. работает в ООО «Дельрус».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана 22.08.2017 г. в Федеральном государственном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Тема диссертационной работы была утверждена на заседании учёного совета Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (Протокол № 1 от «1» июня 2016 года)

Научный руководитель:

Дерябина Юлия Ивановна, к.б.н., заведующая лабораторией экологической и эволюционной биохимии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Подготовленная диссертационная работа Сековой В.Ю. была представлена 17.09.2021 г. на заседании совместного семинара лабораторий: экологической и эволюционной биохимии, структурной биохимии белка, молекулярной инженерии, биохимии стрессов микроорганизмов, молекулярной генетики, биоэнергетики и групп экспериментальной микологии и геномной инженерии низших эукариот Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

По итогам заседания принято следующее заключение:

Актуальность темы и направленность исследования.

Дрожжи *Yarrowia lipolytica* имеют большой потенциал во всех сферах современной биотехнологии. Кроме того, дрожжи *Y. lipolytica* находят широкое применение в качестве модели для фундаментальных исследований. *Y. lipolytica*, обладающая I комплексом дыхательной цепи митохондрий, может служить удобной моделью в исследовании митохондриальных патологий и демонстрирует преимущество над другими видами дрожжей, в частности, наиболее популярным лабораторным видом *Saccharomyces cerevisiae*, обладающим факультативно-аэробным метаболизмом. Однако, несмотря на широкие возможности *Y. lipolytica*, биотехнологический потенциал данного объекта реализуется на практике крайне медленно. Во многом это обусловлено противоречивыми и неполными данными о физиологии *Y. lipolytica* и ее адаптивном ресурсе. Как известно, стрессовые воздействия на клетку, такие как экстремальные значения pH и температуры, лимитирование по какому-либо компоненту питания или изменение условий

аэрации, зачастую являются неотъемлемым элементом биотехнологического процесса. Незнание тех или иных физиологических особенностей организма приводит к проблемам проектирования биотехнологических процессов, что делает их впоследствии экономически невыгодными или невозможными.

Конкретное личное участие автора в получении научных результатов.

Представленные в диссертации экспериментальные данные получены либо автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование и проведения эксперимента, обработку, оформление и публикацию результатов. Обсуждение, обобщение и интерпретация некоторых экспериментальных данных, формулировка основных положений диссертации, составляющих ее новизну и практическую значимость, формирование цели, задач, выводов и обсуждение результатов проводилось совместно с научным руководителем.

Степень обоснованности научных положений рекомендаций и выводов, полученных соискателем.

Выводы, представленные в этой работе, полностью подтверждены экспериментальными данными. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Используемые методики исследования и проведенные расчеты корректны.

Наиболее существенные результаты, полученные лично автором и их новизна.

В работе впервые получена экспериментальная модель культивирования *Y. lipolytica* W29 при комбинировании хронического теплового и щелочного стрессоров. Впервые показаны различия антиоксидантного статуса клеток *Y. lipolytica* W29 при культивировании в оптимальных и щелочных условиях, в условиях теплового стресса, а также при комбинировании теплового и щелочного стрессоров. Показано, что тепловое воздействие приводит к наиболее выраженному вовлечению антиоксидантных механизмов клеточной защиты. Впервые предложены концептуальные схемы изменений метаболизма углеводов и липидов клеток *Y. lipolytica* W29 при оптимальной температуре, а также при тепловом стрессовом воздействии. Впервые продемонстрировано снижение степени ненасыщенности жирных кислот мембранных кардиолипинов при щелочном стрессе за счёт возрастания в их составе маргариновой кислоты. Впервые показано расходование запасных триацилглицеридов клеток *Y. lipolytica* W29 из липидных капель в условиях теплового и щелочного стрессов и при их комбинировании. Впервые проанализированы изменения протеома клеток *Y. lipolytica* W29 при тепловом и комбинированном стрессовых воздействиях. Впервые показана способность к перекрёстной адаптации между тепловым и щелочным стрессорами для *Y.*

lipolytica. Впервые продемонстрировано увеличение экспрессии митохондриального порина в условиях щелочного стресса, а также при комбинировании щелочного и окислительного стрессоров.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем ученой степени.

По теме диссертации опубликовано 6 статей, отражающих основной объем диссертационной работы в изданиях, удовлетворяющих требованиям п. 13 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного правительством РФ от 24.09.2013 г. №842, и перечню рецензируемых журналов ВАК.

1. **Секова В. Ю., Исакова Е. П., Дерябина Ю. И.** Применение экстремофильных дрожжей *Yarrowia lipolytica* в биотехнологии (обзор) //Прикладная биохимия и микробиология. – 2015. – Т. 51. – №. 3. – С. 290-290.
2. **Секова, В. Ю., Гесслер, Н. Н., Исакова, Е. П., Антипов, А. Н., Дергачева, Д. И., Дерябина, Ю. И., и Трубникова, Е. В.** Окислительно-восстановительный статус экстремофильных дрожжей *Yarrowia lipolytica* при адаптации к pH-стрессу //Прикладная биохимия и
3. **Куланбаева, Ф. Ф., Секова, В. Ю., Исакова, Е. П., Дерябина, Ю. И., и Николаев, А. В.** Новый эффективный промотор гена митохондриального потенциалзависимого порина VDAC в геноме дрожжей *Yarrowia lipolytica* //Доклады Академии наук. – Федеральное государственное бюджетное учреждение" Российская академия наук", 2016. – Т. 470. – №. 4. – С. 475-478.
4. **Секова, В. Ю., Дергачева, Д. И., Терешина, В. М., Исакова, Е. П., и Дерябина, Ю. И.** Углеводный спектр экстремофильных дрожжей *Yarrowia lipolytica* в условиях pH-стресса //Микробиология. – 2018. – Т. 87. – №. 2. – С. 125-135.
5. **Sekova, V. Y., Dergacheva, D. I., Isakova, E. P., Gessler, N. N., Tereshina, V. M., Deryabina, Y. I.** Soluble sugar and lipid readjustments in the *Yarrowia lipolytica* yeast at various temperatures and pH //Metabolites. – 2019. – Т. 9. – №. 12. – С. 307.
6. **Sekova, V. Y., Kovalyov, L. I., Kovalyova, M. A., Gessler, N. N., Danilova, M. A., Isakova, E. P., & onse to Increased Temperature and Alkaline Stress //Microorganisms. – 2021. – Т. 9. – №. 12. – С. 2619. Deryabina, Y. I. Proteomics Readjustment of the *Yarrowia lipolytica* Yeast in Resp**

Также были опубликованы два патента:

1. Пат. RU-2562869 C1 Российская Федерация, МПК Н C12N 15/81.

Интегративная генетическая конструкция pQ-SRUS для получения штаммов дрожжей *Yarrowia lipolytica*, обладающих способностью к гомологичной рекомбинации генома митохондрий за счёт экспрессии гена белка RECA бактериального происхождения/ Энова Е.Ю., Дерябина Ю.И., Исакова Е.П., Секова В.Ю., Трубникова Е.В., Кудыкина Ю.К., Зылькова М.В; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук (ИНБИ РАН). – № 2014144075/10; заявл. 31.10.2014; опубл. 10.09.2015.

2. Пат. RU 2609646 С Российская Федерация, МПК Н С12N 15/81. Модифицированный вариант гена *lacZ* из *E. coli*, кодирующий стабилизированный вариант белка, для использования в качестве транскрипционного репортера в *Yarrowia lipolytica*/ Энова Е.Ю., Баловнева М.В., Дерябина Ю.И., Исакова Е.П., Секова В.Ю., Трубникова Е.В., Кудыкина Ю.К., Зылькова М.В., Гусева М.А., Белоус А.С., Диссанаяке Д.Г., Лашодя В.Д.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Курский государственный университет" (ФГБОУ ВПО "КГУ") – № 2015116622; заявл. 30.04.2015; опубл. 02.02.2017.

Результаты работы также были представлены на 14 международных и всероссийских конференциях.

Практическая значимость диссертации и использование полученных результатов.

Выявленные в ходе работы физиолого-биохимические закономерности адаптации *Y. lipolytica* W29 к различным видам стресса расширяют представления об адаптивном потенциале данного организма, в особенности, о способности к адаптации *Y. lipolytica* W29 к хроническому комбинированному стрессу (тепловому и щелочному). Полученное в исследованиях углеводного спектра *Y. lipolytica* W29 конститутивно высокое процентное содержание маннита в цитоплазме при оптимальных условиях позволяет рассматривать этот микроорганизм в качестве потенциального штамма-производителя данного полиола. Индукция промотора гена митохондриального порина VDAC в трансформированной линии *Y. lipolytica* W29 при щелочном и комбинированном стрессовых воздействиях делает перспективным его применение в качестве индуцибельного промотора для синтеза рекомбинантных белков.

Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите.

Представленная Сековой В.Ю. диссертация посвящена исследованию адаптации дрожжей *Y. lipolytica* к неблагоприятным условиям среды. Работа

соответствует формуле и пунктам 31.27.19 области исследования специальности 1.5.4. Биохимия.

Таким образом, можно считать диссертационную работу Сековой Варвары Юрьевны «Основные физиолого-биохимические и молекулярные аспекты адаптации к стрессовым факторам у дрожжей *Yarrowia lipolytica*» законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует критериям, изложенным в п. 9. «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого правительством РФ от 24.09.2013 г. №842, и профилю диссертационного совета 24.1.233.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Работа отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Соответственно, принято решение рекомендовать диссертационную работу Сековой Варвары Юрьевны «Основные физиолого-биохимические и молекулярные аспекты адаптации к стрессовым факторам у дрожжей *Yarrowia lipolytica*» к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальные оппоненты: Васильева Светлана Васильевна, доктор биологических наук, зав. лаборатории теоретической генетики, Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, главный научный сотрудник, заслуженный деятель науки.


Аринбасарова Анна Юрьевна, кандидат биологических наук, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН), обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», лаборатория адаптации микроорганизмов, старший научный сотрудник

Ведущая организация: Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (МГУ)

Заключение принято на совместном семинаре лабораторий экологической и эволюционной биохимии, структурной биохимии белка, молекулярной инженерии, биохимии стрессов микроорганизмов, молекулярной генетики, биоэнергетики и групп экспериментальной микологии и геной инженерии низших эукариот Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» путём открытого голосования от 17 сентября 2021 года. Присутствовало на семинаре – 24 чел. Результаты голосования: «за» – 24 чел., «против» – нет,

«воздержалось» – нет, протокол №1 от «17» сентября 2021г.

Председатель
совместного семинара лабораторий
заведующий лабораторией биоэнергетики
доктор биологических наук, профессор

 Юрина Н.П.

Секретарь
совместного семинара лабораторий
с.н.с. лаборатории экологической и
эволюционной биохимии,
кандидат биологических наук

 Гесслер Н.Н.

