

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени

кандидата биологических наук Ефимовой Веры Сергеевны на тему:

«Реконструкция энзиматической холестерингидроксилазной/лиазной системы быка в гетерологичных клетках по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Стероидные гормоны являются, пожалуй, главным классом среди гормональных соединений многих видов беспозвоночных и позвоночных животных. Регуляция гормонами центральных фундаментальных процессов, протекающих в этих многоклеточных организмах, во многом проявляется на различных стадиях их развития: от дифференцировки и роста до размножения, адаптации и формирования поведенческих реакций уже зрелого организма. Механизм действия стероидных гормонов на целевые клетки к настоящему времени достаточно хорошо изучен и состоит, главным образом, в опосредованной (в комплексе с регуляторным белком-рецептором) регуляции транскрипции соответствующих генов. Основным предшественником стероидных гормонов является холестерин, который подвергается биотрансформации в клетках яичников, плаценте, коры надпочечников и др. и секретируется в виде стероидов с характерным для каждого вида клеток спектром продуктов.

Важно также отметить, что сами стероидные гормоны обнаруживают высокую липофильность, что позволяет им сравнительно эффективно проникать как внутрь клеток-мишеней, так и секретироваться стероидогенными клетками.

Учитывая разнообразие воздействия стероидных гормонов на организм млекопитающих, не вызывает удивления, что они нашли широкое применение в практической медицине в качестве диуретических, противовоспалительных, контрацептивных, анаболических и противораковых средств. В числе таких

фармацевтических препаратов на основе стероидных гормонов можно отметить кортикостероиды, эстрогены и андрогены.

Особняком в этом ряду стоит гормональная онкотерапия, где, наряду с химиотерапией, показана эффективность применения гормонов при злокачественных опухолях молочной железы, простаты, почек, поджелудочной железы и, в ряде случаев, меланомы. Развитие «индивидуальной» медицины одновременно предполагает и введение в практику более «тонких» медико-биологических методов характеристики клеток злокачественного новообразования человека. Эти методы во многом могут способствовать выбору наиболее эффективного метода гормонотерапии для индивидуального пациента.

Все приведенные факты указывают не только на эффективность использования таких биологически активных соединений, как стероидные гормоны, в практической медицине, но и ставят задачу разработки эффективных методов их получения, а также разработку новых модифицированных вариантов этих веществ.

Следует отметить, что химический синтез стероидных гормонов является довольно трудоемкой задачей, хотя химиками (Торгов И.В., 1984) и предложен был оригинальный промышленный метод на основе конденсации циклических 1,3-дикетонов с бициклическими винилкарбинолами. Это многостадийный синтез, дающий, в конечном итоге, рацемическую смесь изомеров, которые были биотрансформированы в L-форму иммобилизованными клетками *S.cerevisiae*. Т.е. и в данном случае предложенный метод нельзя назвать чисто химическим, но, скорее, именно химико-ферментативным.

Разработка микробиологических вариантов получения стероидных гормонов позволило не только осуществить уникальные стереоспецифические преобразования исходных веществ-предшественников в стероидные гормоны, но и привело к многократному снижению их себестоимости. Так, одной из сложностей для химического подхода является 1,2-дегидрирование, 11-

гидроксирование исходного вещества. Микроорганизмы осуществляют этот процесс ферментативно и с высоким выходом. Можно отметить, что данный подход получения стероидных гормонов является типичным примером процесса «зеленой химии». Микробиологический подход позволил в настоящее время предложить биотехнологический вариант синтеза важнейших лекарств: преднизон, гидрокортизон, преднизолон, дексаметазон, широко применяемые терапии тяжелых форм ревматических заболеваний, воспалительных процессов, бронхиальной астмы, а также хронических заболеваний кожи.

Дальнейшее развитие и повышение эффективности микробиологического синтеза может обеспечить не только получение широкого спектра стероидных гормонов, но и разработать методы целенаправленного биосинтеза модифицированных структур стероидных гормонов, обладающих улучшенными или более специфичными свойствами. Для этого и возникает необходимость более детального исследования как свойств ферментов пути биосинтеза стероидных гормонов, так и конструирования модельных штаммов-биотрансформантов.

В связи с вышеуказанным, работа Ефимовой В.С., направленная на исследование роли в биогенезе стероидных гормонов холестерингидроксилазной/лиазной (ХГЛ) системы – первой ключевой стадии стероидогенеза, включающей цитохром P450_{ssc} и белки-переносчики электронов: [2Fe-2S] ферредоксин-адренодоксин (Adx) и NADPH-зависимую флавиновую редуктазу- адренодоксинредуктазу (AdR), а также получение и исследование свойств рекомбинантных штаммов и трансгенных клеток, содержащих в своем составе ХГЛ-систему, несет все признаки фундаментальности, актуальности, своевременности и имеющей безусловную практическую значимость.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа Ефимовой В.С. изложена на 164 страницах и построена по традиционному плану, включающему Введение (стр.6 - 10), Обзор литературы (стр.11-60),

Материалы и методы (стр.61-86), Результаты (стр.87-128), Обсуждение результатов (стр.129-143), Выводы (стр.143) и Список литературы (стр.144-163), включающий 220 ссылок. Литературные источники включают данные достаточно современных работ (вплоть до 2018г.). Работа иллюстрирована 7 таблицами и 50 рисунками. Следует отметить, что все части диссертационной работы идеологически тесно связаны между собой и информативно дополняют друг друга.

В диссертационной работе Ефимова В.С. четко определяет как **цель** всего исследования, так и **задачи**, которые она планирует решить для достижения (стр.7) сформулированной цели. Эта постановка достаточно четкая, однозначная, и полностью соответствует проведенному в работе исследованию.

Обзор литературы состоит из семи разделов и соответствует заявленной теме диссертационной работы. Первый из них полно характеризует монооксигеназные системы цитохромов P450. Дана подробная характеристика как самих цитохромов P450, так и рассмотрено их молекулярное строение. Особое внимание, что важно для дальнейшего исследования, автор уделит каталитическому циклу этого типа цитохромов.

Учитывая основное направление диссертационной работы, особое внимание в Литературном обзоре автор направил на обсуждение данных по изучению механизма стероидогенеза в организме млекопитающих и структурной организации холестерингидрокситлазной/лиазной (ХГЛ) системы коры надпочечников. Подробно рассмотрены структурные организации белков, входящих в эту систему: цитохрома P450_{scc} (CYP11A1), адренодоксинредуктазы (AdR) и адренодоксина (Adx). Отдельно уделено внимание характеристике комплексов Adx-P450_{scc} и Adx-AdR.

Предполагая реконструкцию ХГЛ системы в гетерологичных клетках, Ефимова В.С. неизбежно приходит к необходимости анализа успехов, достигнутых другими авторами, при проведении аналогичных работ. Автор подробно рассмотрел модельные системы и подходы, используемые для реконструкции

монооксигеназных систем в гетерологичных клетках: цитохромов P450 (бактерии и дрожжи). Особо автор обозначил перспективность в практической реализации методов совместной экспрессии в гетерологичных клетках генов, используемых для реконструкции систем цитохромов P450.

Не менее пристальное внимание в Литературном обзоре диссертации Ефимова В.С. уделила описанным в научных изданиях методам совместной экспрессии генов, основанным на применении нуклеотидной последовательности, кодирующей пептид 2А вируса ящура и 2А-подобных пептидов. Автор не ограничился перечислением использования этой системы, но и подробным образом рассмотрел особенности трансляции белков вируса ящура и механизм расщепления пептида 2А, что является особо важным для планирования его дальнейшего исследования, направленного на совместную экспрессию генов системы ХГЛ в гетерологичных клетках. Ефимова В.С. в Литературном обзоре отдает должное исследователям, уже достигшим определенных успехов в использовании вышеуказанного подхода с использованием 2А пептида, и указывает на широкое применение полученных штаммов микроорганизмов как для продукции белков, применяемых в медицине и биотехнологии, так и для биотрансформации предшественников при получении стероидных гормонов. Не обошла вниманием Ефимова В.С. и тот факт, что сконструированные рекомбинантные штаммы могут служить тест-системами при разработке и исследовании веществ, являющихся потенциальными ингибиторами соответствующих цитохромов.

Полученная и хорошо проанализированная информация, предложенная в научных статьях, привела автора к вполне обоснованной центральной идее диссертационной работы: попытаться реконструировать энзиматическую холестерингидроксилазную/лиазную систему быка в гетерологичных клетках с использованием метода совместной экспрессии белков этой системы на основе пептида 2А вируса ящура и исследовать активность соответствующих белков.

В разделе **Материалы и методы** Ефимова В.С. дает полное описание реактивов и экспериментальных подходов, использованных при исследовании, их аппаратное оформление. Безусловно, что при столь подробном описании не вызывает затруднений повторение предлагаемых экспериментов. Однако излишняя подробность представления ставших уже стандартными методов (например, электрофорез ДНК в агарозном геле, рестрикционный анализ, подробности конструирования плазмид на основе хорошо известных векторов, электрофорез белков в полиакриламидном геле, техника проведения Вестерн-блота, приготовление компетентных клеток и их трансформация, гибридизация по Саузерну и т.д.). Эти методы хорошо описаны в соответствующих руководствах и сопровождающей документации фирм-изготовителей. Столь подробное описание этих экспериментов целесообразно в случае внесения автором в методику существенных модификаций. Пожалуй, и само конструирование целевых векторов можно существенно сократить, добавив графическое отображение (рисунок) стадий их получения. Кроме того, в описании экспериментов необходимо быть внимательнее к численным значениям. Например, на стр.75 при описании постановки Вестерн-блота указана величина концентрации ДСН 0,0375% (?!). Вряд ли такая высокая точность достигалась (да нужна ли она в этом случае?) в эксперименте, особенно в условиях использования стандартного лабораторного оборудования. *Излишняя подробность описания методических подходов приводит к существенному «утяжелению» этого раздела диссертационной работы, общий объем которого составил 26 страниц (стр.61-87).*

В разделе «Результаты» Ефимова В.С. изложила основные экспериментальные данные, полученные в ходе проведенной работы. Для этого раздела характерна логически выверенная структура. Автор принимает вполне обоснованное решение на первом этапе исследовать возможность и эффективность реконструкции энзиматической активности холестерингидроксилазной/лиазной системы быка в клетках *E.coli*. С этой целью была создана полицистронная генетическая

конструкция, содержащая гены, кодирующие цитохром P450_{ssc}, Adx и AdR, которая была клонирована в составе плазмиды. Экспериментально (Вестерн-блот) было показано, что созданная конструкция обеспечивает накопление в клетках бактерии всех трех рекомбинантных белков. Сравнительный количественный анализ уровня биосинтеза указанных белков позволил автору сделать вывод о важности расположения генов в полицистронной структуре: перемещение гена цитохрома P450_{ssc} на первое место привело к двукратному повышению накопления рекомбинантных P450_{ssc} и Adx. Получив рекомбинантные штаммы клеток *E.coli*, Ефимова В.С. исследовала эффективность биотрансформации холестерина в прегненолон. Анализ экстракта суспензии клеток показал, что процесс биотрансформации, хотя и осуществляется, но с низким выходом, причиной которого является ограничение проникновения гидрофобного холестерина в клетки. Дополнительное изучение влияния различных химических агентов, способствующих как растворению гидрофобных стероидов в водной среде, так и пермеабиллизации (ДМСО, β -метилциклодекстрин (МЦД), этанол, сапонин, лизоцим) приводит к увеличению накопления прегненолона. При этом наиболее эффективным оказался β -метилциклодекстрин (МЦД) в 0,2% концентрации. В его присутствии (0,5% МЦД и 6% ДМСО) накопление прегненолона *in vivo* клетками *E.coli*/pTrc99A/CHL достигало 0,62 мг прегненолона/л сгущенной суспензии клеток $\times 24$ ч. На основании проведенных экспериментов Ефимова В.С. делает вывод о том, что лимитирующей стадией процесса биотрансформации в данном случае является отсутствие активного транспорта в исследуемые рекомбинантные клетки.

Сконструированные на предыдущем этапе клетки *E.coli* с реконструированной ХГЛ автор использовал для выяснения влияния определенных аминокислотных остатков, локализованных в активном центре цитохрома P450_{ssc}, на эффективность конверсии стероидных субстратов. После проведения биоинформатического анализа 3D-структур 27 структурных гомологов цитохрома P450_{ssc}, способных к взаимодействию с холестерином и β -ситостерином, в

активном центре цитохрома P450_{ssc} были идентифицированы аминокислотные остатки I351, L355 и I461, замена которых, по расчетным данным, на А могла привести к изменению субстрат-связывающего кармана и увеличению активности P450_{ssc} в отношении β-ситостерина. Автор получил соответствующие мутантные гены P450_{ssc} и сконструировал рекомбинантные штаммы, содержащие систему ХГЛ, в состав которой вошли мутантные формы P450_{ssc}. Было подтверждено, что все эти версии P450_{ssc} эффективно синтезируются в клетках *E.coli*, но активность ХГЛ системы *in vitro* в гомогенатах рекомбинантных клеток резко снижена как в отношении β-ситостерина, так и в отношении 20α-гидроксихолестерина. При этом обнаружено, что введение каждой из указанных мутаций приводит к резкому снижению каталитической активности именно цитохрома P450_{ssc}. Замена же сразу двух или трех обсуждаемых аминокислотных остатков приводит к полной инактивации фермента.

Выявление лимитирующей стадии в биотрансформации холестерина в прегненолон рекомбинантными клетками *E.coli* инициировало автора на поиск других типов клеток, которые могли бы уменьшить или даже снять этот эффект. Ефимова В.С. выдвинула предположение, что такими клетками могут быть дрожжи, для которых показано (например, *Hansenula polymorpha*, *Pichia methanolica*, *Yarrowia lipolytica*) что они обладают механизмом активного транспорта липофильных субстратов.

Т.о. автор диссертации определил следующий этап работы, который был направлен на реконструкцию ХГЛ системы в клетках дрожжей. В этом случае Ефимова В.С. впервые применила новую стратегию осуществления одновременного накопления белков ХГЛ системы быка в клетках дрожжей. Были сконструированы фрагменты ДНК, последовательно кодирующие гены предшественника P450_{ssc}, Adx и AdR, но, в отличие от аналогичной полицистронной конструкции для биосинтеза соответствующих белков в *E.coli*, образующийся в дрожжах полипептид был искусственно разделен

саморасщепляющимся пептидом-линкером 2А вируса ящура, обеспечивающим образование индивидуальных белков в процессе трансляции. Важно отметить, что в данной конструкции присутствовал предшественник P450scc с адресующей митохондриальной пре-последовательностью субъединицы IV цитохром с-оксидазы дрожжей (pCoxIV), который может определять адресацию P450scc в митохондрии. Именно с помощью адресации P450scc в митохондрии предполагалось более точно детектировать расщепление 2А-линкера.

Сконструированный вектор pCoxIVP450scc-2А-Adx-2А-AdR, действительно обеспечивал синтез полипептида в клетках дрожжей *S. cerevisiae*, который расщеплялся с образованием индивидуальных целевых белков (CoxIVP450scc-2А, Adx-2А и AdR). Тем не менее, анализ состава белков рекомбинантного штамма-продуцента показал, что значительное количество Adx и AdR присутствовало в клетках в составе слитого белка Adx-2А-AdR. Т.е. эффективность расщепления второго пептида-линкера 2А была значительно ниже. Исследование функциональной активности реконструированной в дрожжах *S. cerevisiae* ХГЛ выявило в гомогенате клеток активность ($4,36 \pm 2,21$ пмоль прегненолона/мг белка гомогената $\times$ ч). Следует также отметить как важное замечание, что наличие дополнительных 18-ти аминокислотных остатков на С-конце цитохрома P450scc и происходящих из расщепленного пептида 2А не влияет на проявление каталитической активности и правильной адресации этого белка.

Основываясь на литературных данных, Ефимова В.С. предположила, что эффективность гидролиза пептидов-линкеров 2А может в значительной степени зависеть от типа клеток, в которых проводится биосинтез соответствующих гибридных полипептидов. В качестве таких клеток автор избрал линию НЕК293Т (эмбриональные клетки почки человека), а для реконструкции ХГЛ системы в этих клетках - вектор pcDNA3.1/pCoxIV-CHL-GFP, с ДНК-вставкой кодирующей предшественник pCoxIV-P450scc и зрелые белки Adx и AdR-GFP, разделенные линкерами 2А вируса ящура. Наличие на С-конце флуоресцентного белка (GFP) в составе полипептида, образующегося при трансляции искусственно созданного

полицистронного гена, позволял определить локализацию в клетке фрагментов этого полипептида. Анализ методом флуоресцентной микроскопии трансфицированных вектором pcDNA3.1/pCoxIV-CHL-GFP клеток HEK293T показал, что полноразмерный полипептид локализуется в цитозоле. Конфокальная микроскопия показала наличие GFP-содержащих белков и в митохондриях. Кроме того обнаружено, что характер расщепления полипротеина CHL-2A в клетках линии HEK293T аналогичен таковому в клетках *S.cerevisiae*: проявляется высокая эффективность расщепления первого 2A-пептида при сохранении в исходном состоянии второго. Проведенный ВЭЖХ-анализ органического экстракта культуральной среды, после культивирования клеток, трансфицированных вектором pcDNA3.1/pCoxIV-CHL-GFP, в присутствии 22R-гидроксихолестерина обнаружил прегненолон. Эффективность превращения *in vivo* предшественника в прегненолон составила $360,0 \pm 75,6$ нг прегненолона/мл культуры×24ч.

Дополнительное исследование показало, что клетках HEK293T отсутствуют цитохром P450_{ssc} и 3β-гидроксистероиддегидрогеназа, а электрон-транспортные белки в митохондриальной локализации могут обеспечить эффективное функционирование цитохрома P450_{ssc}. С учетом выявленных особенностей, Ефимова В.С. предлагает рассматривать линию HEK293T как модельные нестероидогенные клетки, имеющие высокий потенциал как для экспрессии соответствующих генов, так и изучения свойств их продуктов - стероидогенных белков.

Однако оставался невыясненным вопрос повышенной устойчивости 2A полипептидного линкера в созданной конструкции трехкомпонентного слитого белка. Понимая, что этот негативный фактор может быть решающим в полноценной реконструкции ХГЛ в гетерологичной системе, Ефимова В.С. предприняла детальное исследование причин этого негативного явления. Учитывая предыдущие опыты и ориентируясь на их результаты, автор выдвинул рациональные пути решения: изменить в составе CHL-2A порядок чередования

белков-компонентов системы т.к. сама аминокислотная последовательность в месте связывания пептида 2А с целевым белком может оказывать влияние на эффективность его расщепления; попытаться модифицировать линкерный пептид F2A (2А вируса ящура, 2А FMDV) посредством введения в N-концевую часть его первичной структуры дополнительного трипептида GSG, который мог бы обеспечить большую подвижность в элементах вторичной структуры пептида 2А; и, наконец, произвести замену F2A на пептиды T2A и P2A вирусов *Thosea asigna* и *Porcine techovirus-1*, соответственно. Исследование показало, что изменение порядка расположения генов в кассете экспрессии плазмиды, действительно, привело к значительному увеличению эффективности его расщепления в клетках *S. cerevisiae*, в то время как дополнительный трипептид не обеспечил эффективное расщепление 2А. В то же время линкеры P2A и T2A продемонстрировали более высокую эффективность расщепления. Логично, что и активность ХГЛ системы, измеренная в гомогенатах рекомбинантных клеток *S. cerevisiae*, увеличивалась при оптимизации эффективности расщепления второго линкера 2А и составила до $12,9 \pm 5,4$ пмоль прегненолона/мг белка гомогената $\times$ ч.

Именно эти данные позволили Ефимовой В.С. вполне целенаправленно провести реконструкцию ХГЛ системы в клетках метилотрофных дрожжей *Yarrowia lipolytica*, что было дополнительно обосновано наличием эффективных систем как транспорта гидрофобных соединений в клетки, так и секреции продуктов их окисления.

Проведенное конструирование фрагмента ДНК, кодирующего гены трех белков ХГЛ системы (CHL-T2A, P450_{scc}-F2A-Adx-T2A-AdR) и соответствующей интегративной плазмиды p67/CHL. В результате проведенных генетических экспериментов был получен штамм *Y. lipolytica* DE131, который обеспечивает эффективную конверсию *in vivo* холестерина в прегненолон (до 594 мкг прегненолона/л сгущенной суспензии клеток $\times$ 24ч.). Данный штамм, после оптимизации культивирования его клеток может использоваться для его

практического применения в разработке биотехнологического способа получения прегненолона.

Следует отметить, что конструирование данного штамма, способного к эффективной биотрансформации холестерина в прегненолон также еще раз подчеркивает практическую значимость полученных Ефимовой В.С. результатов.

В сравнительно краткой главе "Обсуждение результатов" автор еще раз обсуждает выбранную им тактику конструирования штамма-биотрансформанта и полученные экспериментальные данные, тесно увязывая их с аналогичными исследованиями, описанными в научной литературе.

Достоверность и обоснованность результатов исследования. Приведенные автором диссертационной работы результаты получены с применением современных и адекватных решаемой задаче методов исследования. Проведен тщательный анализ полученных данных корректными методами их математической обработки. Выводы диссертационной работы основаны на полученных автором результатах и корректно сформулированы. Результаты работы достаточно полно изложены в четырех статьях в рецензируемых профильных зарубежных научных журналах, неоднократно докладывались на международных и российских конференциях, т.е. материалы диссертации доступны для анализа и обсуждения широким кругом исследователей. Достоверность представленных результатов не вызывает сомнений.

Заключение. Совокупность изложенных результатов анализа рецензируемой работы позволяет утверждать, что это исследование является самостоятельным и цельным научным трудом. Его автор – Ефимова В.С. проявила себя как высококвалифицированный исследователь, способный не только к решению поставленной задачи, но и, на основе творческого анализа полученных

собственных и литературных результатов, формулировать последующие направления в выяснении деталей изучаемого явления. Автор диссертационной работы своим исследованием не только выявил новые элементы и особенности функционирования полипептидов-линкеров при реконструкции ХГЛ системы быка в гетерологичных клетках, сконструировал на основе клеток метилотрофных дрожжей штамм (*Y. lipolytica* DE131), способный к биотрансформации холестерина в прегненолон, но и заложил прочные основы для дальнейшей оптимизации этого процесса.

Автореферат достаточно полно соответствует изложенному в диссертационной работе материалу.

Замечания. При проведении исследования Ефимова В.С. проделала, без преувеличения, колоссальный объем практической работы. Однако именно этот факт, на мой взгляд, не позволил ей провести оптимально разумную тактику преподнесения полученных результатов:

1. Как уже отмечалось выше, раздел "Материалы и методы" преподнесен с излишней подробностью, что не только "утяжелило" его, но и вылилось в некоторое методическое пособие для начинающих генных инженеров и генетиков.

2. Работа не лишена опечаток и стилистических неточностей. Так, например, автор не всегда корректно подменяет понятие "аминокислотный остаток" на "аминокислоту".

3. На фоне большой проделанной работы, раздел, направленный фактически на изучение структурно-функциональной организации (роли отдельных аминокислотных остатков) цитохрома P450_{ssc}, хотя, в некоторой степени, и связан тематически с заявленной темой, но его можно было бы не приводить. От такого решения, по-моему, сама диссертационная работа только бы выиграла.

4. Наконец, хотя практически все цифровые данные, приведенные в таблицах и на рисунках, подвергнуты статистической обработке, но можно

рекомендовать автору больше внимания уделять физическому смыслу этих значений и не приводить в целом ряде случаев их точность до тысячных долей. Необходимо соотносить приводимую точность и аппаратное оформление, с использованием которого получены исходные числовые значения.

Указанные замечания носят, в основном, редакционный характер и не умаляют высокий методический уровень рецензируемой диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость. Диссертация полностью отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.03 – «молекулярная биология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Ефимова Вера Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник
Лаборатории молекулярной инженерии Федерального государственного
учреждения «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»

Вейко Владимир Петрович

«_____» мая 2019г.

Контактные данные:

тел.: 8(916)614-8932, e-mail: vladeiko@yahoo.com

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 03.01.03 - Молекулярная биология

Адрес места работы:

119071 Российская Федерация

г. Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский
центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН», Лаборатория
молекулярной инженерии

Тел. +7 (495) 954-52-83; e-mail: info@fbras.ru

Подпись сотрудника

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский
центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»

В.П.Вейко удостоверяю:

Ученый секретарь ФИЦ Биотехнологии РАН,
кандидат биологических наук

— (Орловский А.Ф.)

«23» мая 2019г.

