

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Малых Е.А.

«Генетическая модификация клеток *Escherichia coli* с целью обеспечения их аденозинтрифосфатом в условиях сверхсинтеза L-гистидина», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - «Генетика».

Диссертационная работа Малых Е.А. посвящена исследованию возможностей обеспечения клеток кишечной палочки, продуцирующих незаменимую аминокислоту L-гистидин, аденозинтрифосфатом (АТФ) в условиях сверх-продукции L-гистидина. Принципиально известно, что в *E. coli* АТФ используется в биосинтезе L-гистидина не только как источник энергии, но и как субстрат, и в ходе биосинтеза гистидина молекула АТФ выводится из клеточного пула с образованием 5-аминоимдазол-4-карбоксамидрибонуклеотида (АИКАР). Однако, в связи с необходимостью повышать продуктивность штаммов, важной задачей является обнаружение новых мишеней АИКАР, влияющих на биосинтез гистидина, рециркуляция АИКАР и поиск новых подходов к обеспечению клеток *E. coli* АТФ в условиях сверхсинтеза L-гистидина.

В ходе работы автор выяснила, что активность ключевого фермента биосинтеза L-гистидина и индукция генов биосинтеза подавляются образующимся АИКАР. С использованием методов генетической инженерии показано, что сверхэкспрессия генов ферментов P_{ur}H и P_{ur}A, инактивация гена транспортёра PitA, и делеция гена регулятора Y_{jj}K оказывают положительное влияние на сверхсинтез L-гистидина. Также, автору удалось заменить необходимый для жизнедеятельности *E. coli* собственный ген цитоплазматической пирофосфатазы на аналогичный ген из *Rhodospirillum rubrum*. Последняя замена увеличила накопление L-гистидина в штамме - продуценте на 30%.

Актуальность диссертационной работы не вызывает сомнения, так как настоящее время L-гистидин находит всё более широкое применение в разных отраслях промышленности. Данная аминокислота остается одной из самых дорогостоящих на мировом рынке, и её промышленное получение в оптически чистой форме L-изомера с помощью бактерий-продуцентов представляет значительный коммерческий интерес. Научная новизна работы также соответствует требованиям, так как автором было впервые показано, что у *E. coli* побочный продукт биосинтеза L-гистидина, АИКАР, подавляет активность ключевого фермента пути биосинтеза, АТФ-фосфорибозилтрансферазы (АТФ-ФРТ). Получены новые данные, указывающие на то, что АИКАР снижает индукцию rho-регулона, контролирующего усвоение фосфора. Таким образом, установлены новые мишени для АИКАР, воздействуя на которые это соединение может снижать сверхсинтез L-гистидина.

В качестве замечания можно отметить, что автор не пояснила, почему в качестве продуцента L-гистидина была выбрана именно *E. coli*, а не *Corynebacterium glutamicum*, широко используемая в промышленном получении аминокислот. Данное замечание не снижает актуальности, научной новизны, и практической значимости работы. Данные исследований, легших в основу представленной диссертации, опубликованы в авторитетных рецензируемых научных журналах из списка ВАК, доложены на международных научных конференциях. Достоверность основных положений и полученных результатов обеспечена грамотным планированием экспериментов, выполненных на высоком методическом уровне, а также большим объемом исследований. Задачи исследования и основные результаты, полученные в рамках данной работы, логично отражены в выводах.

Представленная диссертантом работа полностью соответствует критериям, определенным в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 11.09.2021), а ее автор - Малых Евгения Александровна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Согласен на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных, необходимых для процедуры защиты диссертации Малых Евгении Александровны, исходя из нормативных документов Правительства РФ, Минобрнауки РФ и ВАК при Минобрнауки РФ, в том числе на размещение их в сети Интернет на сайте ИОГен РАН, на сайте ВАК, в единой информационной системе.

Лавров Константин Валерьевич

Доцент, кандидат биологических наук по специальности 1.5.7 - Генетика

тел.: 8 /495/ 315-01-83, e-mail: lavrov.ko@gmail.com

«22» сентября 2022 г. 

Институт nano-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных наук и технологий (ИНБИКСТ) Московского физико-технического института (Национального исследовательского университета)

117303, г. Москва, ул. Керченская, д.1 А, корп. 1

<https://mipt.ru/>

Подпись Лаврова Константина Валерьевича заверяю

Заместитель директора ИНБИКСТ

Кандидат физико-математических наук

Давтян Александр Георгиевич

