

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Закатаевой Наталии Павловны: «**Применение стратегий метаболической инженерии для генетического конструирования штаммов-продуцентов пуриновых производных на основе *Bacillus***», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика

Работа Закатаевой Н.П. посвящена разработке новых подходов к конструированию высокоэффективных продуцентов пуриновых производных, в частности, пуриновых нуклеозидов на основе штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus amyloliquefaciens*. Задачей данных исследований стал поиск подходов и стратегий метаболической инженерии технологически стабильных и экономически эффективных, бесплазмидных, немаркированных штаммов бацилл – продуцентов пуриновых нуклеозидов, инозина и гуанозина, для биотехнологической промышленности.

Целью данной работы являлась разработка и применение стратегий метаболической инженерии для генетического конструирования эффективных продуцентов пуриновых соединений на основе штаммов *Bacillus*, *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens*. Для её достижения соискателем были поставлены следующие основные задачи:

1. Создать удобный генетический инструментарий для внесения немаркированных генно-инженерных модификаций в хромосомы плохо трансформируемых штаммов-продуцентов *B. amyloliquefaciens* и родственных бацилл;
2. Выявить ключевые подходы для изменения генетической регуляции метаболизма бацилл с целью усиления биосинтеза и накопления пуриновых соединений в среде культивирования.

Разработанный в ходе этого исследования простой, быстрый и надежный метод введения направленных немаркированных модификаций хромосомы клеток *B. amyloliquefaciens* и родственных бацилл был применен автором и его коллегами в АО «АГРИ» при конструировании различных штаммов-продуцентов на основе этих бактерий. Этот метод также активно используется в ряде отечественных и зарубежных лабораторий для изучения метаболизма и создания различных продуцентов на основе штаммов бацилл, о чем свидетельствуют многочисленные отечественные и международные публикации.

В ходе исследования Закатаевой Н.П. были выявлены и применены ключевые подходы к созданию эффективных продуцентов пуриновых нуклеозидов. Они включают усиление биосинтеза пуринов *de novo* путем снятия негативной регуляции конечными продуктами этого пути как на уровне транскрипции генов пуринового оперона, так и на уровне активности фермента фосфорибозилпирофосфатсинтетазы (PRPP-синтетазы). Были получены перспективные для биотехнологии мутации, приводящие к свехэкспрессии генов биосинтеза пуринов и снятию ингибирования PRPP-синтетазы. Показано, что увеличение уровня экспрессии найденных генов 5'-нуклеотидаз позволяет усилить дефосфорилирование не только пуриновых нуклеотидов, но и некоторых их метаболических предшественников – 5'-аминоимидазол-4-карбоксамид-1-β-D-рибофуранозил 5'-монофосфата (AICAR) и производных – флаavinмоноклеотида, (FMN), повышая таким образом продукцию биотехнологически важных метаболитов, пуриновых нуклеозидов, AICAR и рибофлавина. В ходе выполнения настоящей работы найдены и охарактеризованы несколько новых генов *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *E. coli* и впервые изучены биохимические свойства их продуктов – белков

дефосфорилирования нуклеотидов и эфлюкса нуклеозидов, что позволило предсказать их физиологическую функцию в клетках. Важно отметить, что сконструированные с применением найденных подходов метаболической инженерии промышленные штаммы-продуценты инозина и гуанозина на основе *B. amyloliquefaciens* нашли практическое применение и используются компанией Ajinomoto Co., Inc. для коммерческого производства этих соединений, обеспечивая высокую конкурентоспособность применяемой технологии. Следовательно, представленные в работе данные имеют как научную, так и практическую значимость.

Таким образом, содержание автореферата позволяет заключить, что по актуальности поставленных задач, методическому уровню и объёму проведенных исследований, новизне и перспективности полученных результатов, имеющих как научное, так и практическое значение, диссертационная работа Закатаевой Наталии Павловны удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, а её автор заслуживает присуждения искомой степени.

Согласен на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных, необходимых для процедуры защиты диссертации Закатаевой Наталии Павловны, 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.

Доктор биологических наук,  
руководитель лаборатории  
биологически активных наноструктур  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Национальный исследовательский центр  
эпидемиологии и микробиологии  
имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации

Лунин Владимир Глебович

07.11.22

Почтовый адрес: 123098, Российская Федерация,  
г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18  
Телефон: +7 (499)1933001, моб +7(916) 1442264  
Электронная почта: lunin1955@gmail.com  
Адрес в сети интернет: www.gamaleya.org

Подпись руки Лунина В. Г. заверяю, ученый секретарь к.м.н. Кожевникова Л.К.

