

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук
(ИОГен РАН)

ул. Губкина, д. 3, г. Москва, ГСП-1, 119991
Тел.: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41
Факс: (499) 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru
http: www.vigg.ru

14. 05. 2021

№ 92 - 02 - 13 / 186

На № _____

Отзыв

на автореферат диссертации Дорошенко Веры Георгиевны «Направленные модификации хромосомы *Escherichia coli* для системного конструирования продуцента фенилаланина», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Докторская диссертация Дорошенко В.Г. посвящена разработке новых подходов к созданию продуцента незаменимой аминокислоты фенилаланина на основе *Escherichia coli*.

В ходе работы решались следующие задачи:

- получение генетически стабильных штаммов *E. coli*, растущих на сахарозе;
- конструирование модельных продуцентов с помощью рекомбинационной инженерии;
- повышение устойчивости к синтезируемому продукту за счёт усиления его экспорта из клетки;
- получение продуцента L-фенилаланина Tug+, не зависящего от тирозина и не накапливающего его в процессе ферментации;
- исследование достаточности восстановленного флавина в хоризматсинтазной реакции в условиях сверхсинтеза L-фенилаланина в клетках *E. coli*;
- конструирование модельного продуцента с метаболической регуляцией синтеза L-фенилаланина.

Решая каждую из поставленных задач, автор применил собственные оригинальные подходы, представляющие общий интерес для исследователей, занимающихся практическим созданием продуцентов биологически активных соединений для промышленности. Как следует из публикаций, Дорошенко В.Г. участвовала в совершенствовании методики рекомбинационной инженерии, обеспечивающей интеграцию нужных генов под соответствующими промоторами в хромосому *E. coli*, что позволяет создавать бесплазмидные и безмаркерные штаммы с известной первичной структурой и требуемыми свойствами.

Новые методические приёмы, разработанные и применённые Дорошенко В.Г., имеют общее значение для биотехнологии. Это относится к новому способу ослабления конкурирующего пути биосинтеза, основанному на С-концевой протеолитической деградации соответствующего фермента. Использование промоторов Pho-регулона для повышения экспрессии нужных генов при лимитацию по неорганическому фосфату, обеспечивающее активацию синтеза соответствующих

ферментов в стационарной фазе роста, также может применяться при создании продуцентов целого ряда метаболитов.

Вместе с тем, осуществлялась глубокая научная проработка каждой проблемы с получением данных, которые представляют интерес и для теории. Так, впервые описаны необычные свойства метаболического транспозона, несущего гены утилизации сахарозы, которые отсутствуют у большинства лабораторных штаммов *Escherichia coli*. Впервые подробно охарактеризован транспортёр ароматических аминокислот, осуществляющий их активное выведение из клеток, который может быть использован и при конструировании продуцентов триптофана, тирозина, а также, вероятно, различных производных этих аминокислот, которые находят всё более широкое применение.

Автореферат диссертации написан четко и ясно, хорошим литературным языком. По результатам исследования опубликовано 13 печатных работ в рецензируемых журналах из списка ВАК РФ и 10 патентов.

Таким образом, диссертационная работа «Направленные модификации хромосомы *Escherichia coli* для системного конструирования продуцента фенилаланина» полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 242, а её автор Дорошенко Вера Георгиевна заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

д.б.н., профессор,

Зав. отделом генетических основ биотехнологии

 / В.Н. Даниленко

ИОГен РАН им. Н.И. Вавилова

119333 Россия, Москва, ул. Губкина, 3

Тел +7 499 135 41 94

Моб +7 903 796 54 63

E-mail: valerid@vigg.ru

Подпись В.Н. Даниленко

заверяю, зам. директора ИОГен РАН

к.б.н. С.А. Брускин.



 / С. А. Брускин