

Отзыв

на автореферат докторской диссертации Дорошенко Веры Георгиевны «Направленные модификации хромосомы *Escherichia coli* для системного конструирования продуцента фенилаланина».

Представленная к защите докторская диссертация выполнена в Акционерном обществе «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика» (АО «АГРИ»). В диссертацию включены исследования, выполненные В.Г. Дорошенко и её группой во время работы по проекту, посвященному конструированию бесплазмидного продуцента фенилаланина на основе *Escherichia coli* для компании Аджиномото (Япония). Спектр задач работы и методы их решения обладали абсолютной новизной с точки зрения создания альтернативы для уже имевшихся плазмидных продуцентов фенилаланина, сконструированных по принципам усиления биосинтетического пути аминокислоты и ослабления его регуляции, а также инактивации побочного пути биосинтеза тирозина. В работе предложен способ получения штамма-продуцента фенилаланина, прототрофа по тирозину, но не накапливающего тирозин в качестве примеси. Достигнуто увеличение продукции фенилаланина с применением охарактеризованного в работе экспортёра ароматических аминокислот YddG, являющегося белком внутренней мембраны *E. coli*. Также, была исследована потребность *E. coli* штамма-продуцента фенилаланина в восстановленном флавиномононуклеотиде с помощью гетерологичной хоризматсинтазы дрожжей, которая восстанавливала этот кофактор. Показан положительный эффект применения метаболической регуляции для продукции фенилаланина, где промоторы Pho-регулона были использованы для контроля экспрессии гена 3-дезоксид-арабиногептулозонат-7-фосфат (DAPN) – синтазы. Эти промоторы активировались при истощении неорганического фосфора в среде, что приводило к увеличению активности DAPN-синтазы во второй половине культивирования штамма и перенаправлению потока углерода из пути общего метаболизма на синтез фенилаланина. В работе предложен способ получения усваивающих сахарозу штаммов *E. coli* со стабильным геномом, что актуально для получения не только аминокислот, но и других полезных соединений из возобновляемого природного сырья глюкозы или сахарозы.

К сожалению, в тексте Автореферата присутствует ряд неточностей и опечаток. Так, в таблице 7 раздела 3.2 значения МИК для Phe и его аналогов завышены, по-видимому, на три порядка; а заключение об экспорте Met штаммом при усилении экспрессии гена *yddG* на основании данных таблицы 8 не представляется строго доказанным. Допущена опечатка в названии раздела 3.3, а описанные в разделе

эффекты недостаточно подтверждены экспериментально. Но вышеизложенные замечания носят частный характер и не снижают ценность работы.

Диссертация представляет собой законченное научное исследование, выполненное на высоком уровне и ориентированное на усовершенствование штаммов-продуцентов аминокислот. Результаты работы были апробированы в форме письменных и устных отчётов внутри компании, а также на российских и международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ в рецензируемых журналах из списка ВАК РФ, а также 10 патентов РФ и других стран.

Представленные в работе подходы и генетические модификации использовались автором и коллегами для конструирования продуцентов аминокислот в АО «АГРИ».

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертация «Направленные модификации хромосомы *Escherichia coli* для системного конструирования продуцента фенилаланина» 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).

Доктор биологических наук, специальность 03.01.03 - "Молекулярная биология",
доцент, специальный научный сотрудник, АО «Научно-исследовательский институт
Аджиномото-Генетика»,

Птицын Леонид Романович
11 мая 2021 г.

Акционерное Общество «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика»
(АО "АГРИ"), Россия, 117545, Москва, 1-й Дорожный проезд, д.1, корп.1
Тел: +7 495 315-23-30
Эл. почта: leonid_ptitsyn@agri.ru

Подпись Птицына Леонида Романовича удостоверяю,
Генеральный директор АО "АГРИ",



Рыбак Константин Вячеславович