



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32
www.fbras.ru, info@fbras.ru

18.09.2024

№

На №

от

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам. директора
ФИЦ Биотехнологии РАН

Жименов Н.В.

« 18 »

2024 г.



Заключение

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» на диссертационную работу Плехановой Н.С. «Влияние процессов N_ε-ацетилирования белков на регуляцию метаболических потоков в *Escherichia coli* штаммах-продуцентах аминокислот»

Диссертационная работа «Влияние процессов N_ε-ацетилирования белков на регуляцию метаболических потоков в *Escherichia coli* штаммах-продуцентах аминокислот» в лаборатории молекулярной биотехнологии Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Плеханова Наталья Сергеевна, 1993 года рождения, в 2018 году окончила ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева по специальности «Химическая технология». С 2018 г. по 2022 г. Плеханова Наталья Сергеевна обучалась в аспирантуре Национального Исследовательского Центра «Курчатовский институт» по специальности «Молекулярная биология». С 2023 г. по настоящее время Плеханова Н.С. работает в Институте биохимии им. А.Н. Баха в должности младшего научного сотрудника.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана 21.04. 2022 г. Иностранный язык (английский), История и философия науки (биологические науки), молекулярная биология 03.01.03 НИЦ «Курчатовский институт», 30.07. 2024 г. Биотехнология 1.5.6 ФИЦ Биотехнологии РАН.

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Ученого совета Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (протокол от 21.07. 2024)

Научный руководитель: **Федоров Алексей Николаевич**, доктор биологических наук, директор Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Подготовленная диссертационная работа Плехановой Н.С. была представлена 3 сентября 2024 г. на заседании совместного семинара лаборатории молекулярной биотехнологии, группы редактирования геномов микроорганизмов, отдела молекулярной биологии микроорганизмов, ЦКП «Промышленные биотехнологии», группы геномного редактирования промышленных микроорганизмов Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы работы

Производство аминокислот микробиологическим методом, в отличие от химического синтеза, является одним из столпов промышленной биотехнологии, а получение штаммов для этого производства всегда было на переднем крае биоинженерных технологий. Технологии, разработанные с целью получения продуцентов аминокислот, использовались и будут использоваться в дальнейшем как для получения продуцентов других полезных соединений, так и в исследовательской практике.

Получение аминокислот с помощью ферментации с высоким выходом удалось достичь только благодаря специально полученным штаммам, первоначально отобранными методами мутагенеза и селекции, а в последствии, методами генно-инженерных подходов.

Ацетилирование аминокислотных остатков лизина в белках играет важную роль во многих биологических процессах. Данный процесс обнаружен практически у всех организмов, и, несмотря на распространенность этой модификации, только с развитием высокотехнологичных методов становится понятной сложная связь между ацетилированием белков и клеточным метаболизмом у бактерий.

Детальное изучение самой распространенной посттрансляционной модификации у бактерий – ацетилирования – позволит разработать новые подходы “тонкой настройки” метаболизма, путем влияния на уже синтезированные белки и перераспределение метаболических потоков.

Конкретное участие автора в получении научных результатов

Соискатель принимал участие во всех этапах работы, включая планирование, постановку экспериментов, обработку и анализ данных, апробацию основных

положений работы на различных конференциях, подготовку публикаций по теме работы.

Степень обоснованности научных положений, рекомендаций и выводов, полученных соискателем

Работа выполнена на высоком экспериментальном уровне с использованием комплекса современных методов исследования: классических биохимических и молекулярно-биологических. Представленные в работе данные являются достоверными, а выводы и положения обоснованными.

Научная новизна работы

Расширены представления о механизмах ацетилирования и деацетилирования аминокислотных остатков лизина в белках *E. coli*. Показано, что профиль ацетилирования одного из ключевых ферментов гликолиза — ГАФД — зависит от штамма, в котором данный белок был синтезирован. Обнаружено, что делеция генов, участвующих в метаболизме ацетата и ацетилировании ϵ -аминогруппы лизина белков влияет как на метаболизм штаммов-продуцентов, так и на продуктивность целевых аминокислот. Описан комплексный подход к изменению метаболизма *E. coli* штамма-продуцента L-треонина при его росте на различных углеродных субстратах, в результате чего получено значительное увеличение продукции L-треонина.

Практическая значимость

Повышение способности *E. coli* ассимилировать ацетат, достигнутое нами с помощью адаптивной лабораторной эволюции, позволило снизить негативное влияние ацетата на рост клеток и продукцию L-треонина. Усиление процесса деацетилирования на поздних стадиях ферментации позволило добиться существенного повышения продуктивности штаммов на различных источниках углерода. Полученный штамм *E. coli* способен использовать разные источники углерода, не теряя своей эффективности, поскольку себестоимость целевого продукта, получаемого с помощью микробного синтеза, в большой степени определяется стоимостью источника углерода. Создание штаммов-продуцентов, способных к усвоению различных источников углерода, позволит производить целевой продукт, независимо от постоянного изменения цен на углеродные субстраты и невзирая на их локальную доступность.

Специальность, которой соответствует диссертация

Диссертационная работа Плехановой Н.С. соответствует п. 1 Молекулярная биотехнология, генетическая и метаболическая инженерия, п. 7 Прикладная энзимология, включая ферментные системы, технологии очистки белков, прикладные аспекты белковой инженерии, п. 8 Промышленная биотехнология, включая создание и применение промышленных микробных продуцентов.

Микробиологическое производство кормового белка Паспорта научной специальности 1.5.6. «Биотехнология» отрасль науки – биологические науки.

Полнота изложения материалов диссертации:

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ. Опубликовано 4 экспериментальные статьи и 1 обзорная статья в научных журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в иностранном научном журнале, входящих в реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science, Scopus, а также тезисы в виде устных стендовых докладов на региональных, всероссийских и международных конференциях.

Наиболее значимые работы, опубликованные по теме:

Slivinskaya E.A., **Plekhanova N.S**, Altman I.B., Yampolskaya T.A. Engineering of *Escherichia coli* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase with dual NAD⁺/NADP⁺ cofactor specificity for improving amino acid production // *Microorganisms*. – 2022. – V. 10. – №. 5. – P. 976.

Plekhanova N. S., Altman I. B., Yurkova M. S., Fedorov A. N. The Effects of N_ε-Acetylation on The Enzymatic Activity of *Escherichia coli* Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2023. – V. 59. – №. 6. – P. 778-785.

Плеханова Н. С., Альтман И. Б., Лившиц В. А., Юркова М. С., Федоров А. Н. Ацетилирование белков у бактерий как способ регуляции метаболизма клетки // *Биотехнология*. – 2023. – Т.39. – № 5. – С. 14-23.

Плеханова Н. С., Лившиц В. А., Юркова М. С., Федоров А. Н. Влияние ацетилирования и деацетилирования белков на метаболизм штаммов *Escherichia coli* // *Биотехнология*. – 2024. – Т.40. – № 3. – С. 36-46.

Плеханова Н.С., Лившиц В.А., Хижняк Т.В., Юркова М.С., Федоров А.Н. Влияние процесса деацетилирования на продукцию треонина штаммом-продуцентом *Escherichia coli* // *Биотехнология*. – 2024. – Т.40. – № 4. – С. 1-11.

Считать диссертационную работу Плехановой Натальи Сергеевны «Влияние процессов N_ε-ацетилирования белков на регуляцию метаболических потоков в *Escherichia coli* штаммах-продуцентах аминокислот» законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует п. 9-14 "Положения присуждения ученых степеней", утвержденного Правительством РФ от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями и дополнениями в редакции №1539 от 11.09.2021). Работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. «Биотехнология».

Заключение по диссертации Плехановой Н.С. «Влияние процессов N_ε-ацетилирования белков на регуляцию метаболических потоков в *Escherichia coli* штаммах-продуцентах аминокислот» принято на совместном научном семинаре лаборатории молекулярной биотехнологии, группы редактирования геномов микроорганизмов, отдела молекулярной биологии микроорганизмов, ЦКП «Промышленные биотехнологии», группы геномного редактирования промышленных микроорганизмов Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» путем открытого голосования. Результаты голосования: "за" - 26 человек, "против" - нет, "воздержалось" - нет. Протокол №3 от 3 сентября 2024 г.

Председатель семинара

Заведующий лабораторией
систем молекулярного клонирования
Заместитель директора по научной работе,
д.б.н., профессор



Равин Н.В.

Рецензент

Заведующая лабораторией
молекулярной биотехнологии
к.б.н.



Юркова М.С.

Рецензент

с.н.с. лаборатории №3
АО «АГРИ»
к.б.н.



Альтман И.Б.

Секретарь

ЦКП «Промышленные
биотехнологии»
с.н.с. к.б.н.



Морозкина Е.В.