ЗАКЛЮЧЕНИЕ

экспертной комиссии Диссертационного Совета Д.217.013.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» по диссертации **Казиевой Екатерины Дмитриевны** на тему: «Новые устойчивые к ретроингибированию мевалонаткиназы, улучшающие продукцию изопрена клетками *Pantoea ananatis*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Комиссия в составе: д.б.н., проф. Шакулова Р.С., д.б.н., проф. Лившица В.А. и проф., Вейко В.П. рассмотрела данную работу и пришла к заключению:

1. Тема и содержание диссертационной работы соответствует профилю Совета. Диссертационная работа может быть принята к защите на диссертационном совете Д.217.013.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика»).

1. Актуальность темы диссертации определяется важностью обнаружения новых устойчивых к ретроингибированию мевалонаткиназ из *M. concilii* и *M. paludicola*, обладающих значительно лучшими кинетическими параметрами, чем ранее известная мевалонаткиназа из *M. mazei*. Было показано преимущество данных мевалонаткиназ для продукции изопрена клетками *Pantoea ananatis*. Изучение структурных особенностей устойчивых к ретроингибированию мевалонаткиназ из *M. concilii* и *M. paludicola* и других закономерностей поможет прогнозировать свойства мевалонаткиназ, что является ценным для изучения заболеваний человека, вызываемых нарушением активности мевалонаткиназы. Отличие профиля ингибирования мевалонаткиназ организмов из разных царств актуально для создания

антибиотиков новых классов. Большое значение для биотехнологии имеет также дальнейшая разработка и совершенствование методов интеграции в бактериальную хромосому, позволяющих быстро добиваться сбалансированного усиления экспрессии генов целевого биосинтетического пути. Разработана новая стратегия, позволяющая отбирать оптимальное соотношение числа дополнительных копий генов биосинтетического пути за один раунд интеграции смеси интегративных плазмид в штамм-продуцент селекцией лучших клонов по продукции. Применение предложенной стратегии привело к увеличению продукции изопрена на 30%, что демонстрирует его потенциальные возможности.

2. В ходе решения поставленных задач был использован широкий спектр микробиологических, генетических, молекулярно-биологических и биохимических методов исследования. Все необходимые измерения проводились в повторностях, с последующей статистической обработкой результатов.

3. Полученные в ходе выполнения данной диссертационной работы результаты содержат научную новизну и имеют практическую значимость, что отражено в выводах диссертации. Клонированы и охарактеризованы новые рекомбинантные мевалонаткиназы из архей, не подверженные ретроингибированию. Показано, что кинетические параметры (K_m) мевалонаткиназ из *M. concilii* и *M. paludicola* характеризуют новые ферменты как значительно более эффективные по сравнению с ранее известной, устойчивой к ретроингибированию мевалонаткиназой из *M. mazei*. Продемонстрировано преимущество мевалонаткиназ из *M. concilii* и *M. paludicola* для обеспечения повышенной продукции изопрена. Разработан новый метод сбалансированного усиления экспрессии генов целевого биосинтетического пути за счёт их случайной, но сайт-специфической интеграции в составе смеси CRIM-плазмид в подготовленные локусы бактериальной хромосомы с последующей селекцией лучших вариантов по продукции целевого соединения. С помощью этого подхода накопление изопрена штаммом-продуцентом увеличено на 30%.

4. Диссертационная работа соответствует пунктам 11, 13 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24.09.2013 года. По теме диссертации опубликовано 2 печатных работы, из которых 1 статья в международном журнале и 1 статья в российском рецензируемом журнале из перечня ВАК. В одной из статей Казиева Е.Д. – первый автор. Получен один патент.

5. В диссертации соискатель ссылается на авторов и источник заимствования материалов и отдельных результатов. При использовании результатов работ, выполненных в соавторстве, автор отмечает это обстоятельство. Автореферат и печатные работы полностью отражают основные положения диссертации.

6. Диссертация соответствует пунктам 9-14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24.09.2013 года в редакции от 28 августа 2017 г.

Диссертация выполнена в Лаборатории №3 Закрытого акционерного общества «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика» (ЗАО «АГРИ»). Научный руководитель – д.б.н., Каташкина Жанна Иосифовна.

Члены комиссии:

Шакулов Р.С.

Лившиц В.А.

Вейко В.П.