

ОТЗЫВ официального оппонента
о диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Хозова Андрея Александровича
на тему: «Исследование механизма транспорта L-треонина и L-серина через
цитоплазматическую мембрану *Escherichia coli* K-12»
по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология

Транспортные системы клеток позволяют осуществлять перенос различных веществ через липидную мембрану, в норме не проницаемую для большинства соединений. В бактериях эти системы позволяют переносить в цитоплазму из внешней среды различные необходимые для клетки метаболиты, а также избавляться от разнообразных продуктов метаболизма и ксенобиотиков. В большинстве случаев транспорт веществ носит активный характер, то есть осуществляется против градиента концентрации транспортируемого вещества на цитоплазматической мембране. Важность транспортных процессов для жизнедеятельности клетки подчеркивается многочисленностью различных транспортеров, кодируемых на бактериальной хромосоме. Так, в случае *Escherichia coli*, гены транспортеров составляют около 11% от общего числа генов этого микроорганизма. В то же время, этот класс белков является на сегодняшний день относительно малоизученным, даже в случае такого классического модельного организма как *E. coli*. Функции многих белков-транспортеров еще неизвестны, а зачастую свойства изученных транспортеров исследованы лишь поверхностно. В этой связи, актуальность диссертационной работы Хозова А.А., посвященной изучению систем транспорта треонина и серина в клетки *E. coli*, не вызывает сомнений. Важно также отметить большой биотехнологический потенциал проведенных работ. Треонин является второй по значимости аминокислотой, используемой в качестве кормовой добавки в животноводстве. Инактивация выявленных переносчиков треонина в штаммах-продуцентах этой аминокислоты потенциально позволит повысить выход целевого продукта при микробном биосинтезе этой аминокислоты.

Диссертационная работа Хозова А.А. изложена на 166 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, состоящего из 290 источников цитирования. Работа содержит 6 таблиц, иллюстрирована 27 рисунками и дополнена четырьмя приложениями.

В обзоре литературы дается подробная характеристика и систематика известных транспортных систем. Особое внимание уделено основному объекту исследования соискателя – системам транспорта гидроксиаминокислот в клетках *E. coli*. Также вкратце рассмотрены механизмы регуляции транспортных систем в различных бактериях. Методы, которые использовал автор в своей работе, подробно им описаны.

Диссертационная работа Хозова А.А. посвящена поиску и идентификации транспортных систем *E. coli*, участвующих, в дополнение к известным системам TdcC и SstT, в процессе активного транспорта треонина в клетки этой бактерии. Для этого были использованы разнообразные генетические подходы, такие как направленный и случайный мутагенез, а также экспрессия библиотеки генов исследуемого микроорганизма. В ходе этих работ был идентифицирован ранее не описанный белок-переносчик треонина и серина: YifK. Были определены кинетические параметры транспорта субстратов этим белком, а также его субстратная специфичность по отношению к сопрягающему катиону. Дальнейший анализ позволил определить еще два белка (BrnQ и LIV-I), участвующих в транспорте треонина у *E. coli*. Несмотря на то, что последние два белка ранее были исследованы, их способность к транспорту в том числе и треонина не была известна. В ходе последующих работ был выявлен ряд генов (*yhjE*, *yjeM*, *ydgl*, *ychE*, *yqeG*, *sdaC*, *alaE*, *cysA*, *proP* и *marC*) также способных влиять на транспорт треонина при нефизиологически высокой концентрации этой аминокислоты в среде роста. В завершении работы показано, что инактивация переносчиков YifK, BrnQ и LIV-I приводит хоть и к небольшому, но статистически достоверному увеличению выхода целевого продукта в штамме-продуcente треонина. В ходе этих экспериментов получен также хоть и неожиданный, но потенциально важный дополнительный результат о том, что инактивация переносчика лизина приводит к существенному увеличению продукции треонина.

Диссертационная работа характеризуется как четкой постановкой задачи исследования, так и ее адекватным решением. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне и вносит исчерпывающий вклад в понимание механизмов транспорта треонина в клетках *E. coli*. Диссертация тщательно оформлена, ее научные положения, выводы и рекомендации вполне обоснованы. Представленный автореферат диссертации по содержанию полностью соответствует диссертации. Данные, полученные в ходе проведенных работ, достоверны и являются новыми.

У меня есть лишь небольшое количество замечаний, носящих второстепенный характер:

1. Показано, что инактивация переносчиков YifK, BmQ и LIV-I по одиночке приводит к небольшому увеличению выхода треонина в штамме-продуcente этой аминокислоты. Было бы важным установить, каким образом одновременная инактивация всех этих трех переносчиков сказывается на продукции треонина.
2. Для определения субстратной специфичности YifK было бы важным оценить, каким образом наличие в среде измерения треонина сказывается на перенос серина этим белком.
3. Известно, что Na^+/H^+ -обменник моненсин действует лишь на грамположительные бактерии, в то время как наличие внешней мембраны препятствует его действию на грамотрицательные бактерии. Поэтому, перед постановкой опытов с моненсином на *E. coli* было необходимо провести пермеабиллизацию клеток этой бактерии, нарушающую целостность внешней мембраны.
4. При изучении транспорта треонина в безнатриевых средах было бы важным измерить примесную концентрацию Na^+ в используемых растворах.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа «Исследование механизма транспорта L-треонина и L-серина через цитоплазматическую мембрану *Escherichia coli* K-12» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология (биологические науки), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном

университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Хозов Андрей Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

заведующий отделом молекулярной энергетики микроорганизмов,

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Богачев Александр Валерьевич

дата: 12.05.2025 г.

Контактные данные:

Тел.: +7 (495) 930-00-86

e-mail: bogachev@belozersky.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.01.03 - Биохимия

Адрес места работы: 119234, РФ, Москва, Ленинские горы 1, корп. 40,
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.
Белозерского, тел.: +7 (495) 939-53-59, e-mail: fxb@genebee.msu.ru

Подпись сотрудника НИИФХБ МГУ А.В. Богачева удостоверяю: