

В диссертационный совет 24.1.213.01,
созданный на базе Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
«Тихоокеанский институт биоорганической химии
им. Г.Б. Елякова» Дальневосточного отделения
Российской академии наук

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Балабановой Ларисы Анатольевны
«Геномный анализ морских гетеротрофных бактерий, продуцентов щелочных
фосфатаз. Структура и свойства щелочной фосфатазы семейства PhoA»,
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 1.5.4 – Биохимия**

Диссертационная работа Ларисы Анатольевны Балабановой посвящена фундаментальному компаративному полногеномному и биохимическому исследованию морских гетеротрофных бактерий и систем их гидролитических ферментов, в частности, щелочных фосфатаз структурного семейства PhoA.

Актуальность темы. Изучение систем щелочных фосфатаз (ЩФ) морских микроорганизмов актуально для раскрытия механизмов адаптации бактерий к мультистрессовым условиям среды и оценки их биотехнологического потенциала. Работа базируется на репрезентативном материале: проведен комплексный фенотипический и полногеномный скрининг более 100 новых изолятов из коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН и типовых штаммов. Полученные данные позволили выявить закономерности диверсификации близкородственных штаммов, применить полифазный подход для таксономической реклассификации родов *Pseudoalteromonas*, *Cobetia*, *Arenibacter*, а также валидно описать новые виды флавобактерий и новый род альфа-протеобактерий *Rhodalgimonas*, ассоциированный с водорослью *Ahnfeltia tobuchiensis*.

Научная новизна и теоретическая значимость результатов. Научная новизна результатов носит приоритетный характер. Автору впервые удалось обнаружить точную локализацию хромосомного гена *phoA* в составе кластера мембранного R_{sx}-комплекса Na⁺-транслоцирующей ферредоксин:НАД⁺-оксидоредуктазы. Получены уникальные данные о внутригеномных гомологах и паралогах *phoD*, *phoX* и *pafA*, локализованных в синтенном окружении генов альтернативного метаболизма и обладающих автономной дифференциальной регуляцией, обеспечивающих базовую адаптацию морских бактерий к дефициту фосфатов в условиях вариативности метаболизма. Фундаментальное значение имеет предложенная соискателем концепция, расширяющая классические представления о роли фосфатаз. Балабановой Л.А. доказано, что ЩФ выступают универсальными регуляторами ответа клетки не только на дефицит фосфатов, но и на любой абиотический стресс (осмотический, солевой, перекисный), индуцирующий окислительный стресс и нарушающий редокс-баланс. На основании данных экспериментальных моделей гетерологичной экспрессии гена *phoA* морской бактерии *Cobetia amphilecti* КММ 296 in

planta доказана универсальность его системной регуляторной функции. При воздействии абиотических стресс-факторов (осмотического, солевого шока, а также при обработке перекисью водорода) ЩФ PhoA инициирует у растения-хозяина реструктуризацию метаболизма в сторону антиокислительного ответа. Фермент PhoA проявляет противовоспалительный эффект в экспериментальной модели колита: нейтрализует ЛПС и сигнальные пурины, что приводит к блокированию воспалительных каскадов и стимуляции антиоксидантной защиты организма аналогично действию кишечной ЩФ IAP.

Особого внимания заслуживает предположение, верифицированное метаболическим моделированием, связывающее внеклеточную ЩФ PhoA с регенерацией пула НАД⁺, необходимого для стабильного функционирования мембранного Rsx-комплекса — важного звена редокс-регуляторных систем клетки. С биохимической точки зрения это объясняет механизм снижения аварийной «утечки» электронов на дыхательных комплексах. Физиологическим подтверждением этой модели служит выявленное дозозависимое влияние ЩФ на редокс-зависимые поведенческие реакции бактерий: процессы хемотаксиса, а также инициацию роста и деградацию биопленок. Установленный соискателем, направленный хемотаксис *C. amphilecti* в зону действия собственного фермента PhoA CmAP при конкурентном выживании на биопленках *P. aeruginosa* доказывает роль ЩФ как медиатора коллективного поведения бактерий. Способность ЩФ в зависимости от концентрации модулировать структуру матрикса биопленок и подвижность клеток расширяет фундаментальные представления о факторах контроля популяционной динамики морских микроорганизмов. Таким образом, соискателем сформулировано новое научное положение о регуляторной роли щелочных фосфатаз в поддержании клеточного редокс-гомеостаза морских бактерий.

Научно-методическим достижением стала разработка веб-приложения Syntenome для визуализации и сравнительного анализа генетического контекста (в формате GTF), обеспечивающего функциональный прогноз белков по их синтенному окружению.

Методология и достоверность. Работа базируется на комплексном подходе, сочетающем методы сравнительной геномики, биоинформатики, экспериментальной микробиологии, биохимии и иммунофармакологии. Значительный объем данных статистически обработан, а биоинформационный анализ валидирован биохимическими методами и *in vivo*. Достоверность результатов подтверждается публикациями в высокорейтинговых журналах, индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science (Q1/Q2). В рамках данного исследования под руководством Л.А. Балабановой успешно защищены две кандидатские диссертации.

В качестве научной дискуссии по материалам исследования хотелось бы уточнить, планируется ли в дальнейшем экспериментальное подтверждение предсказанных регуляторных функций фосфатаз у бактерий и механизма их действия на биопленки?

Заключение. Представленный автореферат полностью и адекватно отражает основное содержание докторской диссертации, структура которой представляет оригинальный дизайн в строгой логической последовательности. На основании анализа результатов исследования можно констатировать, что диссертационная работа

