

## ОТЗЫВ

научного руководителя о диссертационной работе  
**ВИНТЕР Маргариты Андреевны** «Разработка биотехнологического способа получения циклического 3',5'-диаденозинмонофосфата и его наноконплексов с хитозаном», представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

ВИНТЕР М.А. в 2019 г. окончила биологический факультет Белорусского государственного университета, получив квалификацию микробиолога.

В лаборатории молекулярной биотехнологии (сейчас отраслевая лаборатория молекулярных био- и нанотехнологий) Института микробиологии НАН Беларуси работает с 03.06.2019. На базе лаборатории в 2021 году подготовила и защитила в Государственном учреждении образования «Институт подготовки научных кадров Национальной академии наук Беларуси» магистерскую диссертацию по теме «Синтез липонуклеотидов с использованием бактериальной фосфолипазы D».

В очной аспирантуре Института ВИНТЕР М.А. обучалась с 2021 по 2024 годы. Цель работы заключалась в создании штамма *Escherichia coli*, продуцирующего термостабильную диаденилатциклазу (ДАЦ) *Bacillus thuringiensis* и экспериментальном обосновании возможности применения этого фермента для наработки циклического 3',5'-диаденозинмонофосфата (цикло-диАМФ).

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

- сконструировать штамм *E. coli* – продуцент ДАЦ *B. thuringiensis*, пригодной для биокаталитического получения фармакологически перспективного соединения – цикло-диАМФ;
- разработать способ получения цикло-диАМФ;
- сконструировать штамм *E. coli* – продуцент полисахаридацетилазы, пригодной для трансформации полимера хитина в хитозан;
- разработать способов получения хитозана;
- получить и охарактеризовать наночастицы на основе хитозана, содержащие в качестве «гостевой» молекулы цикло-диАМФ;
- наработать экспериментальные образцы цикло-диАМФ и его комплекса с хитозаном для будущего изучения биологической активности.

Запланированная работа выполнялась в рамках задания 3.8 «Создание рекомбинантных штаммов микроорганизмов – продуцентов потенциально иммуногенных генетических конструкций» в рамках ГПНИ «Биотехнологии-2» на 2021-2025 гг. (№ госрегистрации 20221228).

В результате проведенных экспериментов ВИНТЕР М.А. получены следующие основные результаты:

1. Создан и запатентован штамм *E. coli* – продуцент рекомбинантной ДАЦ *B. thuringiensis*. Продуцирующая способность полученного штамма в отношении целевого фермента составила 720 ед/л, что более чем в 2 раза превышает аналогичный показатель лучшего из описанных в литературе штаммов.

2. Продемонстрировано, что полученный штамм продуцирует целевой фермент в форме каталитически активных телец включения. Установлено, что иммобилизация ДАЦ в составе телец включения позволяет повторно использовать полученный ферментный препарат не менее 10 раз.

3. Разработана технология получения цикло-диАМФ, предусматривающая трансформацию АТФ в целевой продукт под действием рекомбинантной ДАЦ с



получением 100 мг препарата за один технологический цикл. Структура полученного цикло-диАМФ подтверждена методами ТСХ, ВЭЖХ, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии.

4. Создан штамм *E. coli* – продуцент полноразмерной нативной полисахариддеацетилазы (ПДА) *B. licheniformis*, пригодной для трансформации хитина в хитозан, что подтверждено методами ТСХ и УФ- и ИК-спектроскопии.

5. Синтезированы и впервые получены наноразмерные (200–300 нм) комплексы цикло-диАМФ с хитозаном. Установлен рН-зависимый характер высвобождения этого динуклеотида из хитозанового комплекса. Полученные результаты свидетельствуют в пользу возможности использования наноккомплексов хитозан–цикло-диАМФ в качестве рН-контролируемой системы доставки цикло-диАМФ в иммунные клетки-мишени.

По результатам работы ВИНТЕР М.А.:

сделаны 3 стендовых доклада на научных конференциях;

опубликованы 5 статей в рецензируемых журналах, 2 статьи в не рецензируемых изданиях и тезисы 3 докладов.

Имеется акт внедрения результатов исследований (лабораторная работа) в учебный процесс вуза (МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ) и положительное заключение аккредитованного отдела контроля качества ОАО «БелВитунифарм» о перспективности использования полученного цикло-диАМФ в качестве вакцинного адьюванта в ветеринарии.

Принципиальным достижением ВИНТЕР М.А. в методическом плане явилось освоение ею сложной генно-инженерной техники выделения и клонирования генов, что позволило ей полностью на базе лаборатории конструировать рекомбинантные штаммы-продуценты ряда полезных ферментов.

При выполнении диссертационной работы ВИНТЕР М.А. проявила себя как весьма энергичный, инициативный и в достаточной мере самостоятельный работник, владеющий навыками поиска специальной литературы в Интернете и работы с ней. Она хорошо владеет английским языком и умеет использовать компьютер для решения научных задач.

В 2022 году ВИНТЕР М.А. вошла в число победителей конкурса Топ-10 НАН Беларуси. В 2023/2024 уч. г. получала стипендию Президента Республики Беларусь для аспирантов, а в 2025 году в соавторстве стала лауреатом Специальной премии Председателя Президиума НАН Беларуси за создание рекомбинантных штаммов микроорганизмов – продуцентов потенциально иммуногенных генетических конструкций.

Она получила именное поздравление Президента Республики Беларусь с Новым 2025 годом и рождеством.

Считаю, что работа ВИНТЕР М.А. по объему, уровню выполнения и значимости полученных результатов отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает степени кандидата наук, за результаты, включающие:

– создание штамма *E. coli* ДАЦ-22, продуцирующего ДАЦ *B. thuringiensis* в форме энзиматически активных тел включения и характеризующегося продуктивностью по отношению к ДАЦ в несколько раз превышает аналогичный показатель лучшего из штаммов-продуцентов этого фермента, описанных в литературе;

– демонстрацию возможности многократного использования тел включения, продуцируемых штаммом *E. coli* ДАЦ-22, в качестве биокатализатора в реакции синтеза фармакологически ценного иммуностимулятора цикло-диАМФ;

– создание нового рекомбинантного штамма *E. coli*, продуцирующего полисахариддеацетилазу *B. licheniformis*, которая способна трансформировать природный биополимер хитин в хитозан;

– впервые синтезированные наноразмерные частицы природного биополимера хитозана, содержащие цикло-диАМФ и способные высвободить его в окружающую среду рН-зависимым способом;

- разработанную лабораторную технологию получения с помощью рекомбинантной ДАЦ цикло-диАМФ, характеризующуюся высоким выходом целевого продукта;

что в совокупности вносит существенный вклад в развитие биотехнологии рекомбинантных ферментов, необходимых для получения биологически активных соединений различного назначения.

Научный руководитель: д.б.н.,  
профессор, чл.-корр. НАН Беларуси

 А.И. Зинченко

Личную подпись   
удостоверяю

Ученый секретарь  И.А. Ровенская  
06.04.2015