

УДК 579.253.43, 579.663.18

## ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩИХ СВОЙСТВ НОВЫХ НЕБЕЛКОВЫХ АМИНОКИСЛОТ И ОТБОР ЭФФЕКТИВНЫХ АНАЛОГОВ L-АМИНОКИСЛОТ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ

© 2016 г. А. Х. Чахалян, С. К. Келешян, Ж. В. Карапетян, А. Г. Давтян, Г. Е. Аветисова, Л. О. Мелконян, А. С. Дадаян, А. С. Сагиян

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА, Ереван, Армения, 0056

e-mail: anachakh@gmail.com, armbiotech@gmail.com

Поступила в редакцию 25.03.2015 г.

Изучены антимикробные свойства 32 новых небелковых соединений, синтезированных в НПЦ “Армбиотехнология” методом асимметрического синтеза, выявлены не известные ранее аналоги L-гистидина и L-изолейцина.

Путем химического мутагенеза получены мутанты штамма дикого типа *Brevibacterium flavum* 14067, устойчивые к аналогу гистидина – (S)-β-[4-фенил-3-(3'-гидроксипропил)-5-тиоксо-1,2,4-тиазол-1-ил]-α-аланину, а также мутанты, устойчивые к аналогу изолейцина – (2S,3R)-оксидейцину.

Показано, что активность синтеза гистидина и изолейцина некоторыми мутантами превосходит уровень синтеза этих аминокислот описанными в литературе наиболее активными штаммами-продуцентами, устойчивыми к одному аналогу. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования новых аналогов в качестве селективных агентов для отбора высокоактивных штаммов-продуцентов L-гистидина и L-изолейцина.

**Ключевые слова:** *Brevibacterium flavum*, небелковые аминокислоты, аналоги аминокислот, мутагенез, штамм-продуцент, гистидин, изолейцин.

**DOI:** 10.7868/S0555109916010037

Получение мутантов с нарушенной регуляцией биосинтеза целевого продукта является универсальным методом селекции штаммов, продуцирующих биологически активные вещества. При получении штаммов-продуцентов L-аминокислот наиболее эффективным генетико-селекционным способом разрегуляции биосинтеза является отбор мутантов, устойчивых к структурным аналогам целевых аминокислот, их предшественников или аминокислот, связанных с ними метаболическими путями. В качестве аналогов могут быть использованы аминокислоты небелкового происхождения, являющиеся функционально замещенными производными природных аминокислот [1].

Такие необычного строения аминокислоты успешно применяются в медицине, в частности, в диагностике и фармакологии, микробиологии и других областях науки [2–4]. Основными природными источниками небелковых аминокислот являются растения и микроорганизмы, выделяющие в среду множество таких соединений [5].

Большая часть аминокислот необычного строения не подавляет рост микроорганизмов, поскольку они не включаются в белковые цепи либо из-за отсутствия специфической т-РНК и соот-

ветствующего кодона, либо из-за того, что их образование не связано с посттрансляционной модификацией [5]. Однако некоторые небелковые аминокислоты обладают антимикробным действием. В силу своей ярко выраженной структурной схожести с природными аминокислотами при добавлении их в минимальную среду для выращивания в избыточных количествах они включаются в состав жизненно важных белков, однако не обеспечивают их функциональность, что в итоге вызывает сбой в метаболизме микробов и приводит к их гибели [6]. Подобные небелковые аминокислоты в большинстве случаев являются аналогами белковых и используются в селекции штаммов-продуцентов [5, 7, 8]. У мутантов, отобранных по признаку устойчивости к конкретному соединению, может происходить избыточный синтез соответствующей аминокислоты, что является предпосылкой для получения на их основе высокоактивных штаммов-продуцентов [9, 10].

Ввиду очевидной тенденции роста мирового уровня микробиологического производства аминокислот [10–13, <http://www.businesswire.com/news/home/20140618006300/en/Research-Markets-Global-Feed-Amino-Acids-Market#.VP65qI6c5-w>] и, в свя-

зи с этим, актуальности задачи усовершенствования штаммов-продуцентов, расширение

арсенала используемых для этой цели структурных аналогов аминокислот за счет ранее не известных, может реально повысить шансы на получение штаммов-продуцентов с высоким уровнем биосинтетической активности.

Как известно, в настоящее время интенсивно развивается направление асимметрического синтеза новых оптически активных небелковых аминокислот, изучение которых позволяет выявить среди них множество биологически активных соединений [14–17].

Цель работы – изучение влияния новых (синтезированных в Научно-производственном центре “Армбиотехнология” НАН РА), оптически активных небелковых аминокислот на рост различных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов и выбор соединений, которые могут быть использованы в генетико-селекционных работах в качестве структурных аналогов тех или иных природных аминокислот.

## МЕТОДИКА

Небелковые аминокислоты были синтезированы в НПЦ “Армбиотехнология” методом асимметрического синтеза [18].

В экспериментах по выявлению новых аналогов аминокислот использовали грамотрицательные (*Escherichia coli* K12, *Salmonella typhimurium* TML) и грамположительные бактерии (*Brevibacterium flavum* 14067, *Corynebacterium glutamicum* 13032) из коллекции НПЦ “Армбиотехнология”. Для оценки уровня синтеза определяемых аминокислот микробиологическим способом использовали ауксотрофные по соответствующим аминокислотам тест-культуры *Corynebacterium glutamicum* ile<sup>-</sup> и *Brevibacterium flavum* his<sup>-</sup>, ранее полученные авторами настоящей статьи [19].

Для выращивания бактериальных культур в качестве полноценной среды использовали агаризованную среду “Caso” и бульон “Caso” фирмы “Merk” (Германия). Минимальной ростовой средой для грамотрицательных бактерий служила среда М9 с добавлением 1,0 мкг/мл тиамин, а для грамположительных – среда Гловера с добавлением 100 мкг/л биотина и 100 мкг/л тиамин [20]. Для выращивания ауксотрофных штаммов соответствующие аминокислоты добавляли в минимальные среды в концентрации 20 мкг/мл.

Для индукции устойчивых к аналогам аминокислот мутантов использовали 1-метил-3-нитро-1-нитрозогуанидин (НГ) (“Sigma”, США). Мутагенез проводили по известной методике [20] с некоторыми модификациями.

Выявление и предварительную оценку способности полученных мутантов к сверхсинтезу целе-

вых аминокислот осуществляли микробиологическим способом, как описано в работе [19].

Более точное количественное определение активности синтеза гистидина и изолейцина отобранными мутантами проводили при ферментации в колбах. Ферментацию проводили при 30°C в течение 72–76 ч. на качалке Innova 43 Shaker “New Brunswick Scientific” (США) при 220 об/мин, в колбах Эрленмейера емкостью 500 мл с 14 мл среды следующего состава (%):

1) при синтезе гистидина:

сахароза – 15.0, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 4.0, дрожжевой экстракт – 3.0, мочевины – 0.2, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – 0.1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0.15, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0.05, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0.05, CaCO<sub>3</sub> – 3.0;

2) при синтезе изолейцина:

сахароза – 15.0, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 3.0, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0.15, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – 0.1, CaCO<sub>3</sub> – 4.0, биотин – 500 мкг/л, тиамин – 300 мкг/л.

Посевным материалом служили ночные культуры, выращенные на качалке в Caso-бульоне в течение 18–20 ч, количество добавляемого посевного материала 1 мл.

Сравнительную оценку активности штаммов, продуцирующих гистидин, проводили методом тонкослойной хроматографии в системе аммиак–бутанол–этанол–ацетон–вода (2.5 : 2 : 2 : 4 : 1), а изолейцин – в системе этилацетат–изопропиловый спирт–аммиак–вода (40 : 40 : 13.6 : 32).

Количественное определение концентрации аминокислот в культуральной жидкости проводили на аминокислотном анализаторе ААА Т339 (“Mikrotechna”, Прага). Полученные результаты обрабатывали статистически, достоверность различий определяли с учетом критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для отбора соединений, которые могут быть использованы при получении штаммов-продуцентов в качестве аналогов природных аминокислот, были исследованы 32 небелковые аминокислоты, синтезированные в НПЦ “Армбиотехнология” (Армения) методом асимметрического синтеза [18].

На первом этапе проверяли способность исследуемых соединений подавлять рост тест-культур, представленных в разделе “Методика”. На чашку с соответствующей для каждого из указанных штаммов минимальной ростовой средой высеивали по 0.1 мл суспензионной культуры с титром 10<sup>9</sup> кл./мл и на поверхность помещали кристаллики (примерно одинакового размера) испытуемых веществ. Засеянные чашки в зависимости от культуры инкубировали при 30° или 37°C в течение 3–5 сут. Зону подавления роста культур, проявляемую как отсутствие газона вокруг кристаллика не-

**Таблица 1.** Снятие ингибирующего действия отобранных соединений добавлением гистидина или изолейцина\*

Небелковая аминокислота	Аминокислота	Тест-культура			
		<i>B. flavum</i> 14067	<i>B. flavum</i> LGS4	<i>B. flavum</i> 23	<i>C. glutamicum</i> 13032
(S)-β-ФГТТА	0	–	–	–	–
	гистидин	+++	+++	+++	+++
(S)-β-АПТА	0	–	–	–	–
	гистидин	+++	+++	+++	+++
(S)-β-АМТТА	0	–	–	–	–
	гистидин	+++	+++	+++	+++
(S)-β-ИАГ	0	–	–	–	–
	изолейцин	++	++	++	++
(S)-ОВ	0	–	–	–	–
	изолейцин	++	++	++	++
(R)-ИВ	0	–	–	–	–
	изолейцин	++	++	++	++
(SR)-ОЛ	0	–	–	–	–
	изолейцин	+++	+++	+++	+++
(RS)-ОЛ	0	–	–	–	–
	изолейцин	–	–	–	–

\* (++) – умеренный рост; (+++) – хороший рост; (–) – отсутствие роста.

белкового соединения, начинали регистрировать после суточного инкубирования.

Результаты исследований показали, что из проверенных небелковых аминокислот ингибирующее действие на рост использованных культур оказывают следующие соединения:

1. (S)-β-[4-фенил-3-(3'-гидроксипропил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин ((S)-β-ФГТТА);
2. (S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-1-ил]-α-аланин ((S)-β-АПТА)
3. (S)-β-[4-аллил-3-(2'метоксифенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин ((S)-β-АМТТА);
4. (S)-β-изопропиламино- α-аланин-гидрохлорид ((S)-β-ИАГ);
5. (S)-оксивалин ((S)-ОВ);
6. (R)-изовалин ((R)-ИВ);
7. (2S,3R)-оксилейцин ((SR)-ОЛ);
8. (2R,3S)-оксилейцин ((RS)-ОЛ).

При этом оказалось, что ингибирующее действие тестируемых соединений не связано с родовой или видовой принадлежностью штаммов и одно и то же соединение может в одинаковой степени подавлять рост представителей разных таксономических групп. Исходя из этого и учитывая структурную схожесть небелковых аминокислот с

определенными белковыми аминокислотами, мы предположили, что они действуют как их аналоги и подавляют рост штаммов, нарушая синтез клеточных белков.

На основании структурных характеристик отобранных 8 соединений предварительно разделили на 2 группы. В первую группу вошли потенциальные аналоги гистидина (1–3), во вторую – аналоги изолейцина (4–8).

Для проверки правильности такого разделения экспериментально была определена возможность снятия ингибирующего действия отобранных соединений на рост различных коринеформных культур в минимальной среде одновременным добавлением в среду соответствующей аминокислоты: гистидина или изолейцина. Испытуемые в качестве аналогов небелковые аминокислоты добавляли в жидкую синтетическую среду в концентрации 6000 мкг/мл, что соответствовало приведенной в литературе максимальной ингибирующей дозе известных аналогов этих аминокислот [21], а аминокислоты гистидин и изолейцин – 100 мкг/мл.

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что ингибирующий эффект соединений (S)-β-ФГТТА, (S)-β-АПТА и (S)-β-АМТТА снимается добавлением в среду гистидина, а соединений (SR)-ОЛ, (S)-β-ИАГ, (S)-ОВ и (R)-ИВ – добавлени-

**Таблица 2.** Определение минимальной концентрации исследуемых аналогов аминокислот, ингибирующих рост штамма *B. flavum* 14067\*

Аналог	Концентрация, мкг/мл					
	0	2000	3000	4000	5000	6000
(S)-β-ФГТТА (гистидин)	+++	+++	+++	++	+	–
(SR)-ОЛ (изолейцин)	+++	+	–	–	–	–

\* (+++) – хороший рост; (++) – умеренный рост; (+) – слабый рост; (–) – отсутствие роста.

**Таблица 3.** Активность синтеза аминокислот устойчивыми к аналогам мутантами *B. flavum* 14067 по результатам микробиологического тестирования

Показатель	(S)-β-ФГТТА				(SR)-ОЛ			
	гистидин				изолейцин			
	0	<6	6–8	>8	0	<8	8–10	>10
Количество мутантов	12	23	22	3	37	27	10	5
% от общего числа мутантов	20	38.3	36.6	5.	46.8	34.2	12.6	6.3

ем изолейцина, следовательно, они являются аналогами гистидина и изолейцина, соответственно, и могут быть использованы для отбора штаммов-продуцентов этих аминокислот. Ингибирующий эффект, вызываемый соединением (RS)-ОЛ, которое предварительно было отнесено к группе аналогов изолейцина, не снимался добавлением этой аминокислоты, следовательно, это соединение не является аналогом и не может быть использовано в качестве селективного фактора. Очевидно, однако, что под действием данного соединения в изученных культурах нарушались другие, не менее важные жизненные функции, в результате чего подавлялся их рост.

Для подтверждения нашего предположения о возможности получения мутантов с повышенным синтезом гистидина и изолейцина при использовании в качестве селективных агентов вновь синтезированных аналогов этих аминокислот нами были проведены модельные опыты на штамме дикого типа *B. flavum* 14067 – коринеформной бактерии, на основе которой получено большинство наиболее часто используемых в микробиологической промышленности высокоактивных продуцентов аминокислот. Из проверенных нами небелковых аминокислот были выбраны две – (S)-β-ФГТТА (аналог гистидина) и (SR)-ОЛ (аналог изолейцина).

Получение устойчивых мутантов осуществляли как было описано ранее в работе [22]. Для этого предварительно определяли минимальную дозу испытываемых аналогов аминокислот, подавляющую рост штамма *B. flavum* 14067 (табл. 2). На основании результатов, приведенных в табл. 2, для получения устойчивых мутантов аналог гистидина (S)-β-ФГТТА использовали в concentra-

ции 6000 мкг/мл, а аналог изолейцина (SR)-ОЛ – в концентрации 3000 мкг/мл. Обработанную НГ культуру высевали на минимальную среду Гловера, содержащую подобранную концентрацию соответствующего аналога, и инкубировали при 30°C в течение 4–6 сут.

В результате было выделено 60 мутантов, устойчивых к аналогу гистидина (S)-β-ФГТТА и 79 мутантов, устойчивых к аналогу изолейцина (SR)-ОЛ.

После получения чистых культур и подтверждения генотипа отдельные клоны (по 50 клонов) всех мутантов были проверены на способность продуцировать соответствующую аминокислоту. Проверку проводили разработанным ранее микробиологическим методом [19]. Факт сверхсинтеза определенной аминокислоты устанавливали по наличию зоны роста ауксотрофной тест-культуры вокруг выросших колоний мутантов. Критерием интенсивности выделения аминокислот в среду служили размер и плотность зоны роста. Количественную оценку активности мутантов проводили путем сравнения зоны роста вокруг колоний исследуемых мутантов с зонами роста вокруг параллельно нанесенных на среду контрольных капель специально приготовленных водных растворов с разной концентрацией соответствующей аминокислоты в пределах 2–12 г/л, с шагом 2 г/л. Результаты проверки представлены в табл. 3. Из табл. 3 видно, что из общего числа (139) полученных аналогустойчивых мутантов *B. flavum* 14067 было отобрано 48, выделяющих в среду гистидин и 42 – выделяющих изолейцин. На основании результатов сравнительной оценки зон роста тест-культур вокруг колоний мутантов

**Таблица 4.** Активность синтеза аминокислот аналогу-стойчивыми мутантами *B. flavum* 14067 в условиях глубокой ферментации

Мутанты, устойчивые к аналогу аминокислоты		Выход аминокислоты, г/л
(S)-β-ФГТТА (гистидин)	His 1	8.5 ± 0.6
	His 2	10.0 ± 0.9
	His 3	11.3 ± 0.23
(SR)-ОЛ (изолейцин)	Ile 1	13.5 ± 0.45
	Ile 2	11.8 ± 0.85
	Ile 3	12.6 ± 0.64
	Ile 4	14.2 ± 0.55
	Ile 5	13.3 ± 0.34

они были разделены на группы по способности к сверхсинтезу целевой аминокислоты.

Для более точного количественного определения активности синтеза аминокислот мутанты, которые в наибольшей степени стимулировали рост тест-культур, были проверены в условиях глубокой ферментации в колбах. Усредненные результаты представлены в табл. 4. Полученные результаты подтвердили данные предварительной оценки активности отобранных штаммов методом микробиологического тестирования.

Анализ полученных данных, показал, что отобранные нами мутанты синтезируют гистидин или изолейцин в количествах сравнимых с синтезом этих аминокислот известными из литературы наиболее активными штаммами-продуцентами, устойчивыми только к одному аналогу [21]. Более того, некоторые устойчивые к вновь синтезированному аналогу гистидина (S)-β-ФГТТА мутанты *B. flavum* 14067 синтезируют до 11 г/л аминокислоты, в то время как биосинтетическая активность продуцентов гистидина, устойчивых к наиболее эффективным аналогам гистидина 1,2,4-триазолаланину или 2-тиазолаланину, составляет не более 6–8 г/л [21]. Сравнительно высокий выход гистидина у устойчивых к новому аналогу (S)-β-ФГТТА мутантов, скорее всего, связан с большей степенью снятия ретроингибирования активности и дерепрессии синтеза ключевого фермента пути биосинтеза гистидина АТФ-фосфорибозил-трансферазы (КФ 2.4.2.17).

Активность полученных нами на основе *B. flavum* 14067 продуцентов изолейцина также не уступает активности описанных в литературе одноступенчатых мутантов, продуцирующих изолейцин [21].

Таким образом, как видно из табл. 3, 80% устойчивых к аналогу (S)-β-ФГТТА мутантов оказались способными к сверхсинтезу гистидина и примерно 53% устойчивых к аналогу (SR)-ОЛ – к сверхсинтезу изолейцина. Следовательно, отобранные в результате проведенных исследований новые аналоги гистидина и изолейцина, синтезированные в НПЦ “Армбиотехнология” методом асимметрического синтеза, могут служить эффективными селективными агентами для отбора штаммов с повышенной активностью синтеза данных аминокислот.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сагиян А.С. Энантиомерно чистые небелковые аминокислоты: способы получения. М.: Наука, 2010. 341 с.
2. Janecka A., Janecki T., Bowers C., Folkers K. // J. Med. Chem. 1995. V. 38. № 15. P. 2922–2924.
3. Nägren K., Halldin C. // J. Label Compounds Radiopharm. 1998. V. 41. № 9. P. 831–841.
4. Читчян М., Мелкумян М., Аветисян Н., Оганезова Г., Оганесян Н., Амбарцумян А., Оганесян Н. // Биол. журн. Армении. 2007. Т. 59. № 3–4. С. 248–253.
5. Barrett G.C. Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids. London: Chapman and Hall, 1985. P. 95.
6. Ikeda Y., Kawahara S., Taki M., Kuno A., Hasegawa T., Taira K. // Protein Engineering. 2003. V. 16. № 9. P. 699–706.
7. Stanchev M., Pajpanova T., Golovinsky F. // Amino Acids. 2000. V. 18. № 2. P. 77–91.
8. Davtyan A., Arstamyan L., Keleshyan S., Karapetyan Zh., Avetisova G., Chakhalyan A. // Screening of Nonprotein Amino Acids for Selection of Natural Amino Analogs. Book of Abstracts of Intern. Sci. Sem. Yerevan: Armenia, 2012. P. 70.
9. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 567 с.
10. Ikeda M. // Adv. Biochem. Eng/Biotechnol. 2003. V. 79. P. 1–35.
11. Krämer R. // Food Biotechnol. 2004. V.18. № 2. P. 7–46.
12. Leuchtenberger W., Huthmacher K., Drauz K. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005. V. 69. №1. P. 1–8.
13. Demain A.L. // Industrial Biotechnology. 2007. V. 3. № 3. P. 269–283.
14. Henning V., Stefan B. // Org. Biomol. Chem. 2007. V. 5. № 3. P. 406–430.
15. Kim S.M., Yang J.W. // Org. Biomol. Chem. 2013. V.11. № 29. P. 4737–4749.
16. Saghyan A., Mkrtchyan G., Dadayan A., Petrosyan S., Geolchanyan A., Simonyan H., Mkrtchyan A., Mkrtchyan S., Gevorgyan A., Iaroshenko V., Langer P. // Tetrahedron: Asymmetry. 2013. V. 24. № 4. P. 229–232.
17. Priyanka S., Krishnananda S., Sanjit K., Gautam P. // Or. Biomol. Chem. 2014. V. 12. № 33. P. 6297–6339.
18. Saghyan A.S., Geolchanyan A.V., Avetisova G.E., Tajiry-an H.Kh., Makarova L.L. Catalog of Scientific Research Institute of Biotechnology. Yerevan, 2008. 21 p.

19. Чахалян А., Келешян С., Карапетян Ж., Давтян А., Коллоян А., Аветисова Г. // Биол. журн. Армении. 2008. Т. 60. № 1–2. С.103–108.
20. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир, 1976. 438 с.
21. Жданова Н.И., Гусятинер М.М. Методы селекции и свойства штаммов микроорганизмов-продуцентов аминокислот. Обзор. М.: ВНИИСЭНТИ, 1985. 64 с.
22. Чахалян А., Келешян С., Карапетян Ж., Давтян А., Аветисова Г., Сагиян А. // Биотехнология. 2009. № 3. С. 24–28.

## ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩИХ СВОЙСТВ НОВЫХ НЕБЕЛКОВЫХ АМИНОКИСЛОТ И ОТБОР ЭФФЕКТИВНЫХ АНАЛОГОВ L-АМИНОКИСЛОТ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ

А. Х. Чахалян, С. К. Келешян, Ж. В. Карапетян, А. Г. Давтян, Г. Е. Аветисова,  
Л. О. Мелконян, А. С. Дадаян, А. С. Сагиян

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА, Ереван, Армения, 0056

e-mail: anachakh@gmail.com, armbiotech@gmail.com

Поступила в редакцию 25.03.2015 г.

Изучены антимикробные свойства 32 новых небелковых соединений, синтезированных в НПЦ “Армбиотехнология” методом асимметрического синтеза, выявлены не известные ранее аналоги L-гистидина и L-изолейцина.

Путем химического мутагенеза получены мутанты штамма дикого типа *Brevibacterium flavum* 14067, устойчивые к аналогу гистидина – (S)-β-[4-фенил-3-(3'-гидроксипропил)-5-тиоксо-1,2,4-тиазол-1-ил]-α-аланину, а также мутанты, устойчивые к аналогу изолейцина – (2S,3R)-оксидейцину.

Показано, что активность синтеза гистидина и изолейцина некоторыми мутантами превосходит уровень синтеза этих аминокислот описанными в литературе наиболее активными штаммами-продуцентами, устойчивыми к одному аналогу. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования новых аналогов в качестве селективных агентов для отбора высокоактивных штаммов-продуцентов L-гистидина и L-изолейцина.

**Ключевые слова:** *Brevibacterium flavum*, небелковые аминокислоты, аналоги аминокислот, мутагенез, штамм-продуцент, гистидин, изолейцин.