

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лобановой Юлии Сергеевны

«Разработка эффективных методов конструирования бесплазмидных рекомбинантных штаммов коринебактерий на основе элементов бактериофагов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.7 – Генетика.

Вид *Corynebacterium glutamicum* является хорошо изученной почвенной бактерией и имеет большое значение для биотехнологии в качестве промышленного продуцента L-аминокислот, в том числе глутамата, лизина и триптофана, применяемых в пищевой и кормовой промышленности, а так же ряда других биологически активных соединений.

Для поддержания рентабельности биотехнологического производства постоянно возникает необходимость в получении штаммов с улучшенными свойствами. Часто в процессе конструирования высокопродуктивных штаммов встает задача увеличения активности генов пути биосинтеза целевого продукта. Одним из простейших решений этой задачи может быть введение дополнительных копий гена в клетку бактерии в составе плазмиды высокой или средней копийности, либо путем интеграции необходимого количества копий гена непосредственно в геном бактерии. Последний вариант является предпочтительным из-за того, что наличие в клетках высококопийных плазмид может существенно влиять на метаболизм штамма, плазмиды могут быть структурно и сегрегационно нестабильными. В связи с этим разработка нового генно-инженерного подхода направленной модификации генома *C. glutamicum* для создания безмаркерных бесплазмидных рекомбинантных штаммов является актуальной и практически значимой задачей.

В ходе исследований, проведенных Лобановой Ю.С. с целью поиска новых генетических элементов для модификации генома *C. glutamicum*, были охарактеризованы два литических $\phi 673$, $\phi 674$ и один умеренный бактериофаг $\phi 16$, их геномы впервые полностью секвенированы и частично аннотированы, что составляет определенную научную новизну работы.

Лобановой Ю.С. предложен метод и сконструирован генетический инструментарий для прецизионной интеграции протяженных и повторяющихся ДНК фрагментов гетерологичного материала в хромосому *C. glutamicum* на основе стратегии Dual-In/Out, которая объединяет несколько систем: (I) RecE⁶⁵⁴T-зависимую систему гомологичной рекомбинации Рас профага *E. coli*; две сайт-специфические системы (II) коринефага $\phi 16$; (III) Cre/*loxP* фага P1 *E. coli*. В работе была впервые продемонстрирована возможность переноса и объединения в одном реципиенте штамме *C. glutamicum* сконструированных

маркированных модификаций посредством электротрансформации геномной ДНК. Предложенная стратегия позволяет быстро и эффективно осуществлять интеграцию целевых фрагментов гетерологичной ДНК с получением на конечном этапе стабильных рекомбинантных штаммов *S. glutamicum* с заданными свойствами. Применение разработанного метода было успешно продемонстрировано для двух промышленно значимых штаммов *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 и ATCC13032 в ходе конструирования штаммов-продуцентов, что отражает практическую значимость разработанного подхода.

Автореферат хорошо отражает все этапы диссертационного исследования. Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне с использованием широкого спектра современных методов молекулярной биологии. Выводы, сделанные в ходе работы, полностью соответствуют ее содержанию, их достоверность подтверждается достаточным количеством экспериментального материала. Основные результаты работы опубликованы и обладают необходимой научной значимостью и новизной.

Таким образом, диссертационная работа Лобановой Юли Сергеевны «Разработка эффективных методов конструирования бесплазмидных рекомбинантных штаммов коринебактерий на основе элементов бактериофагов» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней» (Постановление правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Белодед Андрей Васильевич
кандидат биологических наук по специальности 03.00.23 – Биотехнология
доцент кафедры биотехнологии
Тел. + 7 (495) 495-23-79, e-mail: beloded.a.v@muctr.ru

21.09.2022

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева"
125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9
+7 (499) 978-86-60, pochta@muctr.ru, <https://muctr.ru>

Подпись Белодеда Андрея Васильевича заверяю.

Ученый секретарь Ученого совета



Калинина Н. К.