

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.

Часто в процессе конструирования штаммов - продуцентов низкомолекулярных химических соединений биогенного происхождения встает задача увеличения активности генов пути биосинтеза конечного продукта. Интеграция целевых генов непосредственно в хромосому бактерии в настоящее время является одним из наиболее используемых генно-инженерных подходов редактирования бактериального генома. В связи с этим поставленная в работе цель - разработка нового генно-инженерного подхода направленной модификации генома *Corynebacterium glutamicum* для создания безмаркерных бесплазмидных рекомбинантных штаммов, является актуальной задачей.

Разработанный метод прецизионной интеграции генетического материала в геном грамположительной бактерии *C. glutamicum* на основе Dual-In/Out стратегии, первоначально разработанной для *E. coli*, включает в себя элементы одной гомологичной и двух сайт-специфических фаговых систем рекомбинации. В ходе исследований, направленных на адаптацию системы Dual-In/Out для *C. glutamicum*, был успешно проведен поиск новых фаговых генетических элементов для модификации генома *C. glutamicum*. Для объединения полученных модификаций был впервые для *C. glutamicum* продемонстрирован метод переноса с помощью хромосомной электротрансформации геномной ДНК. В ходе работы Лобановой Ю. С. была выявлена закономерность, что локусы, выбранные Mu-зависимой системой для транспозиции, способны к эффективной RecA-зависимой гомологичной рекомбинации. Однако было показано, что в условиях RecE^{564T} экспрессии эффективность переноса маркированных модификаций с помощью метода хромосомной электротрансформации значительно повышается, что практически не ограничивает возможности этого метода.

Применение разработанного метода было продемонстрировано на примере интеграции генов флуоресцентных белков в геном двух промышленно значимых штаммов *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 и ATCC13032, что явилось демонстрацией возможности осуществить последовательную интеграцию необходимого числа копий нескольких целевых генов в хромосому *C. glutamicum*.

Данный подход, использованный в работе, представляет значительный научный и практический интерес и может быть рекомендован как для проведения фундаментальных

исследований, так и в качестве полезного инструмента для редактирования геномов не только штаммов *Corynebacterium glutamicum*.

Автореферат написан грамотным научным языком и доходчиво описывает все этапы диссертационного исследования. Представленные результаты не вызывают сомнения в их достоверности и свидетельствуют о научной актуальности и прикладной значимости проведенной работы. Выводы, выносимые автором на защиту диссертационной работы, четко сформулированы и обоснованы, подтверждены публикациями в зарубежных журналах с высоким импакт-фактором.

Заключение

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.

Леонова Татьяна Евгеньевна
старший научный сотрудник
кандидат биологических наук по специальности 03.00.15 - Генетика
Тел. + 7-916-509-2545, e-mail: tanpog@mail.ru

«18» августа 2022 г.



Геномный Центр "Развитие генетических технологий для промышленной микробиологии"
Курчатовского комплекса генетических исследований (ГосНИИГенетика) Федерального
государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр
«Курчатовский институт»

123182, г. Москва, пл. Ак. Курчатова д.1

Тел.: +7(499) 196-95-39, www.nrcki.ru

Подпись Леоновой Татьяны Евгеньевны заверяю:

Главный ученый секретарь
НИЦ "Курчатовский институт"




ПОДПИСЬ

Сергунова К.А.