

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.088.01  
(Д 002.214.01) НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ОБЩЕЙ  
ГЕНЕТИКИ ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 20.10.2022 протокол № 36

О присуждении Лобановой Юлии Сергеевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка эффективных методов конструирования бесплазмидных рекомбинантных штаммов коринебактерий на основе элементов бактериофагов» по специальности 1.5.7. – генетика принята к защите «02» июня 2022 г., протокол № 19, диссертационным советом 24.1.088.01 (Д 002.214.01.) на базе федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3, приказ Минобрнауки РФ №105/нк от 11.04.2014.

Соискатель Лобанова Юлия Сергеевна, 1990 года рождения, в 2012 году окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», ей присуждена квалификация «Инженер» по специальности «Биотехнология», специализация – «Экобиотехнология».

Диссертационная работа Лобановой Юлии Сергеевны выполнена в Акционерном Обществе «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика» (АО «АГРИ»), г. Москва.

Подготовку диссертации Лобанова Ю. С. начинала в должности лаборанта 1-й категории, а позднее стала младшим научным сотрудником в АО «АГРИ», кем и является по настоящее время.



Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано 19 августа 2021 года Федеральным государственным бюджетным учреждением «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», в котором Лобанова Ю.С. обучалась для сдачи экзаменов кандидатского минимума в 2013-2014 гг.

Научный руководитель диссертационной работы – Горшкова Наталья Васильевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник АО «АГРИ».

**Официальные оппоненты:**

- **Каратаев Геннадий Иванович**, доктор биологических наук по специальности 1.5.11. микробиология, 1.5.7. - генетика, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории генетики бактерий Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи" (НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи) Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва.

- **Яненко Александр Степанович**, доктор биологических наук по специальности 1.5.7. - генетика, 1.5.11. микробиология, профессор, руководитель Курчатовского комплекса генетических исследований (ККГИ)-ГосНИИгенетика Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", г. Москва.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы. Высказаны незначительные замечания, вопросы и комментарии, относящиеся скорее к оформлению работы, в частности, к редакционным недочетам. В большинстве своем замечания носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания и комментарии представлены в стенограмме заседания.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», (ФИЦ Биотехнологии РАН), г.



Москва, в своем положительном заключении, подписанным Мардановым А.В., доктором биологических наук по специальности 1.5.3. - молекулярная биология, профессором, заведующим лабораторией геномики микроорганизмов и метагеномики ФИЦ Биотехнологии РАН, указано, что диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, полноте описания и достоверности полученных результатов полностью соответствует всем требованиям ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертация является законченным научным исследованием, представляющим новые данные, ценные как для фундаментальной науки, так и для практики. Диссертация выполнена на высоком научном уровне. Выводы и заключения обоснованы. Диссертация в целом не вызывает серьезных замечаний. Замечания в основном редакционного характера. Ответ на отзыв представлен в стенограмме заседания.

Соискатель имеет 3 публикации по теме диссертации, все статьи в рецензируемых научных журналах. Кроме того, итоговые результаты работы были представлены на международной конференции.

Список публикаций, соответствующих Перечню ВАК и индексируемых в базе Web of Science/Scopus.

1. **Lobanova J.S.**, Gak E.R., Andreeva I.G., Rybak K.V., Krylov A.A., Mashko S.V. (2017). Complete nucleotide sequence and annotation of the temperate corynephage  $\phi$ 16 genome. Arch Virol. 162(8): 2489–2492.
2. Gorshkova N.V., **Lobanova J.S.**, Tokmakova I.L., Smirnov S.V., Akhverdyan V.Z., Krylov A.A., Mashko S.V. (2018). Mu-driven transposition of recombinant mini-Mu unit DNA in the *Corynebacterium glutamicum* chromosome. Appl Microbiol Biotechnol. 102(6): 2867–2884.
3. Yomantas Y.A.V., Abalakina E.G., **Lobanova J.S.**, Mamontov V.A., Stoynova N.V., Mashko S.V. (2018). Complete nucleotide sequences and



annotations of  $\phi 673$  and  $\phi 674$ , two newly characterised lytic phages of *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032. Arch Virol. 163(9):2565-2568.

**На автореферат диссертации отзывы прислали:**

1. Леонова Татьяна Евгеньевна – кандидат биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика, старший научный сотрудник Геномного Центра «Развитие генетических технологий для промышленной микробиологии» Курчатовского комплекса генетических исследований (ГосНИИгенетика) Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»», г. Москва. Отзыв положительный, без замечаний.
2. Белодед Андрей Васильевич – кандидат биологических наук по специальности 1.5.6. – биотехнология, доцент кафедры биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева», г. Москва. Отзыв положительный, без замечаний.
3. Цавкелова Елена Аркадьевна – доктор биологических наук по специальности 1.5.11. – микробиология, 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), старший научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», г. Москва. Отзыв положительный с требованием пояснить смысл используемого термина «доза природных генов». Ответ на замечание представлен в стенограмме заседания.

Выбор официальных оппонентов определяется их большим опытом в области генетики и молекулярной биологии, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы.

Выбор ведущей организации обосновывается высоким уровнем проводимых в ней исследований в области фундаментальной и прикладной биотехнологии, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.



**Диссертационный совет отмечает,** соискатель разработал новый метод интеграции рекомбинантной ДНК в геном промышленно значимой бактерии *C. glutamicum*, который является мощным генетическим инструментом, позволяющим получить на конечном этапе стабильные рекомбинантные штаммы, не содержащие плазмид и маркеров антибиотической устойчивости.

**Теоретическая значимость исследования** заключается в том, что соискателем был представлен значительный объем фактической информации о трех новых коринефагах. Вирулентные коринефаги  $\phi 673$ ,  $\phi 674$  и умеренный бактериофаг  $\phi 16$  были охарактеризованы морфологически, а их геномы впервые полностью секвенированы и частично аннотированы. Изучение коринефагов вносит свой вклад в расширение знаний об эволюции и видовом разнообразии фагов коринебактерий. Впервые идентифицирован и охарактеризован ген эксцизионазы фага  $\phi 16$ , являющийся компонентом фаговой сайт-специфической системы рекомбинации. Также были продемонстрированы данные, доказывающие способность укороченного варианта экзонуклеазы  $\text{RecE}^{564}$  совместно с полноразмерной рекомбиназой  $\text{RecT}$   $\text{Rec}$  профага *E. coli* осуществлять рекомбинацию между дц линейным фрагментом ДНК и кольцевой хромосомой *C. glutamicum*. Автором была впервые продемонстрирована возможность переноса и комбинации маркированных модификаций методом электротрансформации геномной ДНК в *C. glutamicum*. Соискателем была выявлена закономерность, что локусы, выбранные  $\text{Mu}$  – зависимой системой при межмолекулярной транспозиции, обладают способностью к эффективной  $\text{RecA}$ -зависимой рекомбинации. Дополнительно соискателем было установлено, что эффективность переноса модификаций методом электротрансформации геномной ДНК может быть существенно увеличена в условиях  $\text{RecE}^{564}$ -Т экспрессии, что значительно расширяет границы применимости метода и позволяет переносить любые модификации, сконструированные в произвольно выбранных локусах.



**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики:** Разработан метод и сконструирован генетический инструментарий для прецизионной интеграции генетического материала в хромосому *C. glutamicum* на основе стратегии Dual-In/Out, которая объединяет несколько систем: (i) RecE<sup>654</sup>T-зависимую систему гомологичной рекомбинации Рас профага *E. coli*; две сайт-специфические системы (ii) коринефага  $\phi 16$ ; (iii) Cre/loxP фага P1 *E. coli*. Функциональность метода была продемонстрирована для двух промышленно значимых штаммов *C. glutamicum* ATCC 13869 и ATCC 13032. Разработанный метод может быть применен для конструирования различных штаммов-продуцентов на основе *C. glutamicum*. Так как высокая эффективность достигается на каждом отдельном этапе Dual-In/Out стратегии, предложенный метод позволяет существенно сократить время и трудозатраты на конструирование модификации. Метод позволяет осуществлять прецизионную интеграцию протяженных, а также повторяющихся кассет, не вызывая при этом геномных перестроек, что выгодно отличает его среди ранее существовавших подходов, разработанных для модификации генома коринебактерий. А впервые продемонстрированная возможность переноса и объединения маркированных модификаций в одном реципиентном штамме *C. glutamicum* посредством электротрансформации геномной ДНК значительно приблизила уровень генно-инженерного инструментария *C. glutamicum* к существующим инструментам для модификации генома *E. coli*.

**Оценка достоверности результатов исследования:** результаты исследования получены с применением современных молекулярно-генетических методов и имеют комплексный характер. Все методы, использованные в исследовании, подробно описаны в работе. Результаты исследования представлены в виде 3 статей в рецензируемых научных журналах. Итоговые результаты представлены на международной конференции.

**Личный вклад соискателя** заключается в получении основных результатов исследования. Автор принимал личное участие на всех этапах



выполнения работы. Электронная микроскопия фаговых частиц проводилась на коммерческой основе в Федеральном государственном бюджетном учреждении "Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", г. Москва. Масс-спектрометрическая идентификация основных белков фагового капсида осуществлялась на коммерческой основе в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», г. Москва.

Диссертация Лобановой Юлии Сергеевны «Разработка эффективных методов конструирования бесплазмидных рекомбинантных штаммов коринебактерий на основе элементов бактериофагов» полностью соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 23 сентября 2013 года.


На заседании 20 октября 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Лобановой Юлии Сергеевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 15 докторов наук по специальности 1.5.7. - генетика, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 15 человек, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель  
диссертационного совета

 Захаров-Гезехус И.А.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

 Горячева И.И.

«20» октября 2022 года

Подписи Захарова-Гезехуса И.А. и Горячевой И.И. удостоверяю



Директор ИОГен РАН

Кудрявцев А.М.