

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

экспертной комиссии Диссертационного Совета Д.217.013.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» по диссертации Горшковой Натальи Васильевны на тему: **«Разработка эффективных методов интеграции рекомбинантной ДНК в хромосому метилотрофных бактерий и коринебактерий на основе системы транспозиции фага Mu»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Комиссия в составе: д.б.н., проф. Шакулова Р.С., д.б.н., проф. Носикова В.В., д.б.н., проф. Лившица В.А. рассмотрела данную работу и пришла к заключению:

1. Тема и содержание диссертационной работы соответствует профилю Совета. Диссертационная работа может быть принята к защите на диссертационном совете Д.217.013.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИГенетика»).

2. Актуальность темы диссертации определяется важностью разработки удобного и эффективного генетического инструментария, позволяющего быстро конструировать стабильные рекомбинантные штаммы с амплифицированными копиями целевых генов в хромосоме, не содержащие плазмиды и маркеры антибиотической устойчивости, промышленно значимой грамположительной *Corynebacterium glutamicum* и грамотрицательных метилотрофных бактерий *Methylophilus methylotrophus* AS1 и *Methylobacterium extorquens* AM-1.

3. В ходе решения поставленных задач был использован широкий спектр микробиологических, генетических, молекулярно-биологических и биохимических методов исследования. Все необходимые измерения проводились в повторностях, с последующей статистической обработкой результатов.

4. Полученные в ходе выполнения данной диссертационной работы результаты содержат научную новизну и имеют практическую значимость, что отражено в выводах диссертации. Впервые был предложен способ интеграции рекомбинантной ДНК *in vivo* в хромосому грамположительной *Corynebacterium glutamicum* и грамотрицательных метилотрофных бактерий *Methylophilus methylotrophus* AS1 и *Methylobacterium extorquens* AM-1 с последующей амплификацией с использованием системы репликативной транспозиции фага Mu *E. coli*. Обнаруженная зависимость внутримолекулярной транспозиции mini-Mu(LER) от наличия и ориентации энхансера E относительно MuL/R-концов позволила разработать стратегию фиксации mini-Mu элементов в интегрированных точках хромосомы за счет Cre-зависимого удаления E из состава mini-Mu элемента перед последующими актами интеграции/амплификации нового mini-Mu(LER) элемента. Конструирование штаммов, производных *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13869 и грамотрицательной метилотрофной бактерии *Methylophilus methylotrophus* AS1, содержащих одновременно в хромосоме различное количество копий двух генов, кодирующих желтый и зеленый флуоресцентные белки, явилось демонстрацией разработанной стратегии.

5. Диссертационная работа соответствует пунктам 11, 13 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24.09.2013 года. По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, включая 3 статьи в международных журналах, 1 статья в российском рецензируемом журнале из перечня ВАК и 1 сообщение на международной конференции. В одной статье Горшкова Н.В. – первый автор. Получен один патент РФ.

6. В диссертации соискатель ссылается на авторов и источник заимствования материалов и отдельных результатов. При использовании результатов работ, выполненных в соавторстве, автор отмечает это обстоятельство. Автореферат и печатные работы полностью отражают основные положения диссертации.

7. Диссертация соответствует пункту 14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24.09.2013 года.

8. Диссертационная работа полностью соответствует пункту 9 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24.09.2013 года.

Диссертация выполнена в Лаборатории №3 Закрытого акционерного общества «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика» (ЗАО «АГРИ»). Научный руководитель – д.б.н., проф. Машко Сергей Владимирович.

Члены комиссии:

Шакулов Р.С.

 Носиков В.В.

 Лившиц В.А.