

**Отзыв научного руководителя на диссертацию
Буюклян Юлии Андреевны
«Генетическая организация и регуляция кластеров биосинтеза антибиотиков у
представителей филума Actinomycetota», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика**

Диссертационная работа Ю.А. Буюклян представляет собой комплексное исследование в области генетики микроорганизмов и биотехнологии, направленное на решение актуальной фундаментальной и практической проблемы – раскрытия генетической организации и регуляции кластеров биосинтеза антибиотиков у представителей филума Actinomycetota. В условиях растущей антибиотикорезистентности и неполной реализации биосинтетического потенциала актиномицетов в лабораторных условиях работа приобретает особую значимость, поскольку затрагивает механизмы регуляции «молчащих» биосинтетических генов, так и вопросы эволюции детерминант резистентности.

Работа выполнена на высоком научном уровне с использованием современных методов микробиологии, молекулярной биологии, биохимии и биоинформатики. Автором продемонстрирована способность к анализу научной литературы, самостоятельной постановке задач, планированию экспериментов и комплексному анализу полученных результатов.

Основные достижения работы:

1. Проведён скрининг 1050 штаммов актиномицетов, выделенных из почвенных образцов на территории РФ, с использованием репортёрной системы pDualrep2; антагонистическую активность проявили 519 изолятов. На основании филогенетического и сравнительного геномного анализа отобраны три штамма – *Streptomyces globisporus* bja209, *Amycolatopsis comptoni* A23^T и *Krasilnikoviella flava* YrIIa5, каждый из которых позволил решить конкретную задачу исследования.

2. Исследована регуляция биосинтеза антибиотиков в штамме *S. globisporus* bja209. Установлено, что ионы железа влияют на переключение между синтезом альбомидина 82 и дефероксамина Е через DmdR1-регулятор, а также впервые показан механизм действия дефероксамина Е, ассоциированный с индукцией SOS-ответа в бактериальных клетках.

3. Создана репортёрная генетическая конструкция pAcTransTest на основе плазмиды pCRISPOmyces-2 для оценки эффективности трансформации актиномицетов. Оптимизирован протокол электропорации для *A. comptoni* A23^T. С использованием системы CRISPR-Cas9 впервые получен мутантный штамм *A. comptoni* A23^T_mut_asfR с инактивированным геном-репрессором *asfR*, что привело к трёхкратному увеличению транскрипционной активности кластера и продукции тетраценомицина Х.

4. Проведён геномный и функциональный анализ непродуцирующего штамма *K.*

flava YrIIa5, обладающего множественной лекарственной устойчивостью. Охарактеризован обширный набор генов резистентности, включая эффлюксные системы ABC- и MFS-типов и модифицирующие ферменты. Показано, что детерминанты резистентности преимущественно наследуются вертикально и не сопряжены с продукцией антибиотиков.

Научная и практическая значимость: результаты работы имеют существенное значение для фундаментальной генетики микроорганизмов, поскольку раскрывают новые механизмы регуляции биосинтеза вторичных метаболитов и эволюции генов резистентности. Практическая значимость заключается в разработке и апробации инструментов генной инженерии – репортёрной плазмиды pAcTransTest, оптимизированного протокола трансформации и системы CRISPR-Cas9 для направленной модификации актиномицетов. Полученные данные могут быть использованы для активации «молчащих» биосинтетических кластеров и конструирования штаммов-гиперпродуцентов антибиотиков.

Апробация и публикации результаты диссертации представлены на трёх научных конференциях и опубликованы в 4 рецензируемых изданиях, индексируемых в базе Scopus, что свидетельствует о признании научного вклада работы.

Замечания и рекомендации работа выполнена на высоком уровне, однако можно рекомендовать расширить исследование механизмов резистентности штамма *K. flava* YrIIa5 и создания на его основе системы гетерологической экспрессии кластеров вторичного биосинтеза, а также углубить изучение молекулярных мишеней дефероксамина Е для создания на его основе лекарственных средств.

Заключение диссертационная работа Ю.А. Буюклян соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает допуск к защите кандидаткой диссертации по специальности 1.5.7. Генетика.

Научный руководитель, к.б.н.

Старший научный сотрудник

Направление «Медицинская биотехнология»

Научный центр Трансляционная Медицина

Бирюков М.В.



Подпись М.В. Бирюкова

08.10.2020

Косуля И.С.