

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Смирнова Александра Васильевича «Исследование механизмов, обеспечивающих интеграцию генетических конструкций при получении трансгенных мышей методом пронуuclearной микроинъекции», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности «генетика» – 03.02.07

Диссертационная работа Александра Васильевича Смирнова посвящена изучению вклада различных путей репарации двуцепочечных разрывов ДНК в образование конкатемеров. Такие репарационные механизмы играют важную роль в интеграции чужеродной ДНК в геном трансгенных животных. Материалом служили линейные молекулы ДНК, вводимые в зиготы мышей и несущие уникальные штрих-коды на обоих концах. В итоге при помощи метода пронуuclearной микроинъекции было получено 10 трансгенных эмбрионов из 50, имеющих разное число копий трансгена. На основании анализа последовательности штрих-кодов было обнаружено, что более 80 % интегрированных копий имеют относительные положения в конкатемерах и подвергаются гомологичной рекомбинации по пути синтез-зависимого отжига цепей (SDSA) или репарации двуцепочечных разрывов ДНК (DSBR). Как оказалось, образование конкатемеров сопряжено не только с событиями гомологичной рекомбинации, но и формированием двойной холидеевской структуры (dHJ) и кроссинговером. Лишь 10% молекул ДНК, введенных в зиготы, лигируются за счет негомологичного или микрогомологичного соединения концов (NHEJ/MMEJ). Наблюдаемая, через взаимодействие концов линейных молекул ДНК, конкатемеризация трансгенов опровергает длительно существующую гипотезу о том, что образование конкатемер происходит путем катящегося кольца. На мой взгляд, Диссертантом с применением метода баркодирования сделаны очень важные исследования, могущие стать прорывными в области генетики, т.к. касаются выявления определенных (специфических) механизмов репарации ДНК в животных клетках.

В работе квалифицированно использованы методы молекулярного (ПЦР-генотипирование, определение копияности методом droplet digital PCR, приготовление библиотек для NGS, секвенирование Pacific Biosciences Single Molecule Real-Time (SMRT)) и биоинформатического анализов. Все необходимые разделы (общая характеристика работы, материал и методы, результаты и обсуждение, заключение) автореферата изложены корректно, ясно, понятно. Выводы конкретизированы, обоснованы и не вызывают сомнений.

Основные результаты диссертации опубликованы в высокорейтинговых зарубежных научных журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus, что свидетельствует об признании полученных автором данных мировым сообществом в области молекулярно-генетических и трансгенных исследований.

Представленная работа «Исследование механизмов, обеспечивающих интеграцию генетических конструкций при получении трансгенных мышей методом пронуuclearной микроинъекции» полностью соответствует требованиям ВАК, а ее автор Александр Васильевич Смирнов, безусловно, достоин присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности «генетика» – 03.02.07.

Кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
лаборатории геропротекторных и
радиопротекторных технологий
Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН
Адрес: 167982 Республика Коми, г. Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, д. 28
тел. 8(8212)312894
e-mail: ushkova@ib.komisc.ru

Елена Александровна Юшкова

04.03.2021 г.

