

ОТЗЫВ

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

Диссертационная работа Смирнова А. В. посвящена исследованию феномена конкатемеризации, характерного для встройки трансгенов в мышинный геном при микроинъекции ДНК в пронуклеус зиготы. Учитывая распространенности технологии трансгенеза в мышах для установления функций генов и получения моделей заболеваний человека, тема работы отличается высокой актуальностью.

Цель работы, сформулированная диссертантом, заключалась в выяснении механизма формирования конкатемеров в зиготе при использовании метода пронуклеарной микроинъекции в процессе получения трансгенных мышей. Для достижения этой цели автор опирался на метод генетического баркодинга, получающий все большее распространение для отслеживания индивидуальных молекул ДНК в клетках и организмах.

В первой части работы получены трансгенных мышинных эмбрионов с конкатемерами встройками трансгенов в геном. Осуществлен дизайн и проведено клонирование баркодированных генетических конструкций. Проведена пронуклеарная микроинъекция и генотипирование эмбрионов, определено количество копий трансгена в образовавшихся конкатемерах. Выполнен NGS-анализ баркодов в конкатемерах.

Вторая часть посвящена анализу карт конкатемеров. Показано, что они образуются без участия амплификации *de novo*, а имеет место рекомбинация между отдельными молекулами введенного в клетку трансгена. На основании паттернов связей между разными копиями трансгена в конкатемерах предложен механизм, согласно которому конкатемеризация происходит за счет гомологичной рекомбинации в ходе репарации двуцепочечных разрывов ДНК.

Работа отличается несомненной новизной и значимостью результатов для понимания процессов, протекающих при инъекции линейной двуцепочечной ДНК в зиготу для получения трансгенных животных. Прибегнув к современным методам молекулярной генетики, автору удалось решить проблему, которая в области трансгенеза стояла несколько десятков лет. Автореферат приятно читать, он написан хорошим языком и прекрасно иллюстрирован. Единственное замечание, которое стоит сделать, касается слабой представленности собственно экспериментальных результатов в автореферате —

им посвящен один рисунок (рис. 5) из семи и единственная таблица; остальные рисунки отражают схемы и модели.

Несмотря на это частное замечание, диссертация производит очень хорошее впечатление. Работа выполнена на высоком научном уровне, результаты опубликованы в 4 статьях в международных журналах 1–2 квартиля, выводы аргументированы и соответствуют полученным результатам. В диссертации содержится решение задачи установления механизма формирования конкатемеров при пронуклеарной микроинъекции, и предлагается метод выявления характерных сигнатур активности разных путей репарации двухцепочечных разрывов ДНК, что имеет существенное значение для области генетики трансгеноза. По своей актуальности, значимости и новизне полученных результатов рассматриваемая диссертационная работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук согласно пп. 9–14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335), а ее автор Смирнов Александр Васильевич заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 — генетика.

Заведующий лабораторией геномной и белковой инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), член-корреспондент РАН, доктор биологических наук

Жарков
Дмитрий Олегович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Телефон: +7 (383) 363-51-87

Эл. почта: dzharkov@niboch.nsc.ru

17 марта 2021 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук	
Подпись <i>Жаркова Д.О.</i>	Заверяю
Заяв. канцелярией	<i>Васильев</i>

