

АННОТАЦИЯ

научно-квалификационной работы Печенова Павла Юрьевича на тему: «Новые подходы к противофаговой защите молочнокислых микроорганизмов»
(06.06.01 Биологические науки, 1.5.6 Биотехнология)

Первая часть настоящей работы посвящена разработке нового инструмента редактирования генома промышленно-ценного вида молочнокислых бактерий, а именно *Lactococcus lactis* для исследования возможности улучшения фагорезистентности путем направленного редактирования генома. Отправной точкой в разработке нового инструмента мы выбрали систему редактирования генома *Escherichia coli* на основе Tn7-подобного транспозона ассоциированного с CRISPR/Cas из *Vibrio cholerae* HE-45. Вторая часть посвящена исследованию биоразнообразия бактериофагов лактококков, вызвавших производственные лизисы на предприятиях переработки молока и молочного сырья России, а также морфологическая и генетическая характеристика фагов рода *Ceduvirus*.

Разработанный нами инструмент редактирования генома *L. lactis* представлен в виде двух котрансформируемых плазмид на базе шатлл-вектора pTRKL2. Путем подбора оптимальных промоторных областей, замены сайтов связывания рибосомы, оптимизации условий культивирования в процессе редактирования мы смогли достичь эффективность в 17 600 КОЕ / мл, содержащих целевую интеграцию размером 1 т.п.о. Эффективность транспозиция же фрагмента размером 10 т.п.о. составила 3 760 КОЕ / мл. Так же мы

Для исследования биоразнообразия бактериофагов лактококков на производствах кисломолочной продукции в России, нами было собрано 76 образцов молочной сыворотки после срыва технологического процесса ферментации молока. ПЦР типированием было выявлено 39 фагов рода *Ceduvirus*, 53 рода *Sknavirus*, 3 относятся к группе P335. Из образцов, содержащих фаги рода *Ceduvirus* нами было выделено 10 чистых культур бактериофагов. С помощью разработанной системы, мы определили их вторичные белковые рецепторы и разделили на c2- и biL67-подобные. Морфология выделенных бактериофагов изучалась методом трансмиссионной электронной микроскопии и показала типичное строение вирионов для данного рода. Прочтение генома осуществлялось по технологии IonTorrent. Все выделенные и просеквенированные нами бактериофаги имеют высокую идентичность с бактериофагом *Lactococcus phage vB_Llc_bIBVp6/4*, наиболее значительно различаются для локусов, кодирующие гены ответственные за распознавание первичных сахаридных рецепторов бактериофага на поверхности клетки и YjaE или Ptp белков.