

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета НТУ.1.5.8.06
Колчанова Николая Александровича
на диссертацию **Куляшова Михаила Андреевича**
«Изучение метаболизма аэробного метанотрофа *Methylovulum microbium*
alcaliphilum 20Z^R методом потокового моделирования»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика

Актуальность темы диссертации

Тема диссертационного исследования Куляшова М.А. отличается высокой актуальностью, поскольку аэробные метанотрофные микроорганизмы представляют собой важнейший объект современной биотехнологии, играя существенную роль в решении экологических и экономических задач, связанных с использованием и утилизацией метана. Развитие математического моделирования метаболизма таких бактерий является неотъемлемой частью повышения эффективности биотехнологических процессов и важнейшим шагом на пути к рациональному использованию природных ресурсов.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа имеет традиционную структуру и включает введение, обзор литературы, разделы, посвящённые материалам и методам, результатам и их обсуждению, заключение, выводы и 6 приложения. Материалы изложены логично и последовательно на 182 страницах текста, иллюстрированы 60 рисунками и 25 таблицами.

Научная новизна результатов диссертационной работы

В диссертационной работе Михаила Андреевича Куляшова получены оригинальные результаты, представляющие существенный вклад в развитие математического моделирования микробного метаболизма и системной биологии метанотрофных микроорганизмов в частности.

В рамках развития вычислительной инфраструктуры, создан специализированный программный модуль BioUML-CBM, позволяющий

выполнять моделирование в среде Jupyter Notebook и интегрировать методы потокового анализа в общую экосистему компьютерной системы BioUML. Это решение делает подходы к моделированию доступными для более широкого круга специалистов, не обладающих глубокими навыками программирования.

Впервые проведена реконструкция четырёх контекст-зависимых потоковых моделей метаболизма бактерии *Methylovibrio mobilis* 20Z^R с учётом транскриптомных данных, отражающих особенности функционирования метаболических путей в зависимости от условий культивирования (наличие Ca²⁺, La³⁺, ограничение метана). Эти модели позволили выявить ранее неизвестные особенности регуляции метаболических флюксов и установить новые функциональные взаимосвязи между экспрессией генов и активностью ключевых ферментов.

Новым является предсказание значимой роли W-зависимой форматдегидрогеназы в метаболизме *M.alcaliphilum* 20Z^R, подтверждённое впоследствии экспериментально, а также выявление специфической роли гена *fae1-2*, кодирующего фермент Fae1-2, вероятно катализирующий конденсацию формальдегида с тетрагидроfolатом — отличную от классической функции фермента Fae1.

В рамках работы также была впервые получена расширенная версия потоковой модели *iIA409*, способная учитывать синтез различных комбинаций рекомбинантных и маркерных белков, включая энергетические затраты на их трансляцию и транспорт. На основе численного анализа предложены потенциальные генетические модификации, направленные на повышение продукции целевых белков в клетках *M. alcaliphilum* 20Z^R при сохранении роста культуры.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость выполненной работы заключается в получении новых знаний о регуляции метаболизма аэробного метанотрофа

Methylovibrio mobilis 20Z^R на основе контекст-зависимого потокового моделирования. Использование разработанных автором моделей позволило выявить ранее не описанные особенности функционирования ключевых метаболических путей, в том числе альтернативные механизмы распределения углеродного потока и электронного транспорта в зависимости от условий культивирования. Существенным результатом является формулировка обоснованной гипотезы о новой функции фермента, кодируемого геном *fae1-2*, как катализатора реакции конденсации формальдегида с тетрагидроfolатом. Проведённый анализ углубляет понимание системных адаптаций метанотрофа и расширяет теоретическую базу для математического описания микробного метаболизма.

Практическая значимость работы заключается, прежде всего, в создании и внедрении модуля BioUML-CBM, предназначенного для реконструкции и анализа потоковых моделей метаболизма. Этот инструмент уже используется в научных исследованиях и образовательной деятельности. Кроме того, расширенная модель метаболизма *M.alcaliphilum* 20Z^R, разработанная в рамках диссертации, обладает прикладным потенциалом для биотехнологии: с её помощью были выявлены перспективные направления генетических модификаций, способствующих увеличению синтеза аминокислот и рекомбинантных белков без снижения темпов роста культуры. Это открывает возможности для рациональной инженерии метанотрофов в промышленном производстве.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, сформулированные автором диссертационного исследования, обоснованы представленной в основном тексте и приложениях совокупностью экспериментальных и вычислительных данных. Предложенные автором гипотезы, основанные на результатах анализа контекст-зависимых потоковых моделей метаболизма, в ряде случаев были подтверждены с привлечением независимых экспериментальных данных, что

повышает достоверность и убедительность полученных выводов. Основные результаты диссертации прошли апробацию в рамках публикаций в высокорейтинговых международных рецензируемых изданиях, что свидетельствует о признании научного качества работы профессиональным сообществом.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации

Содержание автореферата соответствует содержанию, основным положениям и результатам диссертации.

Оценка диссертационного исследования

Диссертационная работа Куляшова Михаила Андреевича представляет законченное научное исследование и выполнена в рамках одного из наиболее динамично развивающихся и актуальных направлений современной математической биологии и биоинформатики. В ней успешно решена задача построения контекст-зависимых потоковых моделей метаболизма *Methylovibrio mobilis* 20Z^R с интеграцией транскриптомных данных, отражающих различные условия культивирования этого промышленно значимого метанотрофа. Кроме того, в диссертации представлена модификация существующей модели iA409, позволяющая учитывать процессы синтеза целевого рекомбинантного белка. Существенным элементом исследования является проведённый теоретический поиск генов-мишеней в центральных метаболических путях, направленный на оптимизацию продукции рекомбинантных белков в клетках *M.alcaliphilum* 20Z^R.

Основные результаты диссертационного исследования отражены в трёх научных статьях, опубликованных в рецензируемых журналах, входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus, при этом две публикации размещены в изданиях, относящихся к первому квартилю (Q1). Кроме того, материалы работы были представлены в виде восьми тезисов на российских и международных научных конференциях.

Тема диссертации, цели и задачи исследования, публикации по работе и положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют заявленной специальности «1.5.8. Математическая биология, биоинформатика», и соответствуют п.1. «Математическое и компьютерное моделирование живых систем: биомолекул, ферментативных реакций, метаболических и сигнальных путей, субклеточных структур, клеток, тканей, органов, систем органов, организмов, популяций, биоценозов.» и п.14. «Математические модели, численные методы, алгоритмы и программные средства применительно к процессам получения, накопления, обработки и систематизации биологических и медицинских данных и знаний» паспорта научной специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика (биологические науки).

Замечания по диссертации

1. В тексте диссертации встречаются не всегда последовательные обозначения одних и тех же понятий, например: "контекст-зависимые модели", "потокосые контекст-зависимые модели", "потокосые модели с учётом экспрессии". Рекомендуется унифицировать терминологию для повышения ясности и читабельности изложения.
2. Ряд результатов численного моделирования изложен преимущественно в описательной форме без указания точных количественных показателей (например, прирост потока, значение прироста биомассы, изменение «потоков»). Было бы полезно усилить численный компонент результатов, представив в тексте основные значения или интервалы полученных параметров, а не только ссылками на приложения в диссертации.
3. Часть выводов, полученных в результате моделирования (например, невозможность определённых потоков через фосфокетотлазу), представлены как факт без углублённого обсуждения биохимических причин или подтверждения из литературы.

4. Хотя модуль BioUML-CBM описан подробно, в тексте недостаточно акцентируется его отличие и преимущества по сравнению с аналогичными зарубежными инструментами (например, COBRA Toolbox, OptFlux, Kbase).
5. Часть иллюстративного материала в тексте и приложениях требует более подробных подписей или пояснений к используемым обозначениям, что повысило бы ясность представления результатов для читателя, не знакомого с программной платформой.

Отмеченные недостатки, однако, не снижают качества исследования и не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации, описанные выше. Результаты оригинальны, обладают научной новизной и практически значимы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус»

Диссертационная работа Михаила Андреевича Куляшова представляет собой завершённое научно-квалификационное исследование, в котором изложены обоснованные результаты моделирования метаболизма метанотрофа *Methylovibrio mobilis* 20Z^R в различных условиях культивирования с применением контекст-зависимых потоковых моделей. В рамках работы была разработана модифицированная версия потоковой модели iIA409, ориентированная на прогнозирование и оптимизацию синтеза рекомбинантных белков, что позволяет рассматривать данный штамм в качестве перспективной биотехнологической платформы. Полученные результаты обладают практической значимостью для направлений, связанных с поиском альтернативных подходов для конверсии природного газа и способствуют развитию отечественной биотехнологии.

Диссертационная работа Куляшова Михаила Андреевича «Изучение метаболизма аэробного метанотрофа *Methylovulum microbium alcaliphilum* 20Z^R методом потокового моделирования» отвечает требованиям пп.2.1–2.6 Положения о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус» утвержденного приказом от 25 декабря 2023 г. № 350/1-ОД-У, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Куляшов М. А., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика.

Член диссертационного совета
НТУ.1.5.8.06

д.б.н., профессор, академик РАН
научный руководитель
ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии
и генетики СО РАН
Сведения:



Handwritten signature and date:
5.05.2025

Колчанов

Николай Александрович

Дата

Колчанов Николай Александрович

Докторская диссертация защищена по специальности
03.00.15 – генетика

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»

Адрес организации: 630090, Новосибирская обл., Новосибирск, Академика
Лаврентьева, 10

Телефон: +7 (913) 919-23-64

e-mail: kol@bionet.nsc.ru