

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА НТУ.1.5.8.06
АВТОНОМНОЙ НЕКОММЕРЧЕСКОЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ
ОРГАНИЗАЦИИ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»

по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

аттестационное дело №НТУ-2025/6
решение диссертационного совета
от 20 мая 2025 г. № 1

о присуждении ученой степени кандидата биологических наук
Куляшову Михаилу Андреевичу, гражданину Российской Федерации,
представившему диссертационную работу на тему: «Изучение метаболизма
аэробного метанотрофа *Methylovumicrobium alcaliphilum* 20Z^R методом
поточного моделирования» по научной специальности 1.5.8. Математическая
биология, биоинформатика.

Диссертационная работа принята к защите 07.04.2025 г, протокол №1,
диссертационным советом НТУ.1.5.8.06 Автономной некоммерческой
образовательной организацией высшего образования
«Научно-технологический университет «Сириус», 354349, Российская
Федерация, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус»,
Олимпийский проспект, д.1.

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 7 человек
приказом временно исполняющего обязанности Директора АНОО ВО
«Университет «Сириус» № 346-ОД-У, Больнякова О.С., от 27.03.2025.
Приказом № 484-ОД-У от 07.05.2025 на основании решения Ученого совета
АНОО ВО «Университет «Сириус» (протокол №90 от 28.04.2025) из состава
диссертационного совета была выведена доктор биологических наук Дедыш
Светлана Николаевна. Ученый секретарь не является членом

диссертационного совета и не участвует в процедурах голосования в соответствии с п. 2.7. Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук АНОО ВО «Университет «Сириус».

Соискатель: Куляшов Михаил Андреевич, 17 декабря 1996 года рождения, окончил:

- в 2018 году федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Novosibirsk State University (NSU), г. Новосибирск, с присвоением квалификации бакалавр по специальности 06.03.01 Биология, диплом серии номер 105424 0829395;
- в 2020 году федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Novosibirsk State University (NSU), г. Новосибирск, с присвоением квалификации магистр по специальности 06.04.01 Биология, диплом серии номер 105424 5295073;
- в 2024 году федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Novosibirsk State University (NSU), г. Новосибирск, программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки (очную аспирантуру) 06.06.01 Биологические науки присвоением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь», диплом серии номер 105424 0829395.

В период подготовки диссертации соискатель проходил обучение по программе подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре очной формы обучения Новосибирского государственного

университета и с 2024 года по настоящее время работает в должности специалиста-исследователя Научного центра генетики и наук о жизни Научно-технологического университета «Сириус».

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» и в Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус».

Научный руководитель – кандидат биологических наук **Акбердин Илья Ринатович**, ведущий научный сотрудник направления «Вычислительная биология», Научный центр генетики и наук о жизни, АНОО ВО «Университет «Сириус».

Члены диссертационного совета:

доктор биологических наук, профессор, академик РАН, **Колчанов Николай Александрович**, научный руководитель Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики СО РАН, заведующий Отделом системной биологии ИЦиГ СО РАН.

доктор биологических наук, доцент, **Афонников Дмитрий Аркадьевич**, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией эволюционной биоинформатики и теоретической генетики, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск;

доктор химических наук, **Головин Андрей Викторович**, профессор направления «Вычислительная биология» Научного центра генетики и наук о жизни, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус»;

доктор биологических наук, **Колпаков Федор Анатольевич**, Научный руководитель направления «Вычислительная биология», Научный центр генетики и наук о жизни, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус»;

доктор биологических наук, доцент, **Лашин Сергей Александрович**, заведующий сектора компьютерного анализа и моделирования биологических систем и сектора биоинформатики и информационных технологий в генетике, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск;

доктор биологических наук, доцент, **Щербаков Дмитрий Юрьевич**, заведующий Лабораторией геносистематики, Лимнологический институт СО РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск;

дали положительные отзывы о диссертации.

Основные положения и выводы по диссертации в полной мере отражены в 11 научных публикациях, в том числе 3 публикациях в изданиях, индексируемых международными базами данных: Web of Science и Scopus, из них 2 статьи, индексируемых в журналах Q-1, 1 – в журнале Q-2, что соответствует критериям, предъявляемым к соискателям, установленным АНОО ВО «Университет «Сириус».

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. Kolpakov F., Akberdin I., Kiselev I., Kolmykov S., Kondrakhin Y., **Kulyashov M.**, Kutumova E., Pintus S., Ryabova A., Sharipov R., Yevshin I., Zhatchenko S., Kel A. BioUML—towards a universal research platform // Nucleic Acids Research. – 2022. – Vol. 50, Issue W1. – P. W124–W131. (Q1).

2. **Kulyashov M.A.**, Kolmykov S.K., Khlebodarova T.M., Akberdin I.R. State-of-the-Art Constraint-Based Modeling of Microbial Metabolism: From Basics to Context-Specific Models with a Focus on Methanotrophs // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11, Issue 12. – P. 2987. (Q2);
3. **Kulyashov M.A.**, Hamilton R., Afshin Y., Kolmykov S.K., Sokolova T.S., Khlebodarova T.M., Kalyuzhnaya M.G., Akberdin I.R. Modification and analysis of context-specific genome-scale metabolic models: methane-utilizing microbial chassis as a case study // mSystems. – 2025. – e01105-24. (Q1);

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов (все положительные):

1. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систем информатики им. А.П. Ершова Сибирского отделения Российской академии наук подписал **Антонец Денис Викторович**, кандидат биологических наук, ведущий программист лаборатории моделирования сложных систем.

Замечания. «Разработка модуля BioUML-CBM – важный результат, но его универсальность и возможность применения к другим метанотрофам или промышленным штаммам в автореферате практически не обсуждаются. Выводы об оптимальных генетических модификациях для продукции белков сделаны на основе моделирования *in silico*, но в автореферате не отражены пределы применимости этих предсказаний к реальным биотехнологическим системам. Кроме того, в работе имеется ряд опечаток и орфографических ошибок.»

2. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», г. Иркутск подписал **Петрушин Иван Сергеевич**, кандидат технических наук, доцент кафедры естественнонаучных дисциплин.

Замечания. «

1. Использование для воплощения потоковых моделей платформы Python (Jupyter Notebook) предъявляет к пользователю дополнительные требования — навыка программирования. Визуальный подход или более высокоуровневый язык позволили бы существенно расширить круг возможных пользователей.
2. Описанный в работе (Kulyashov M.A. et al., 2025) программный продукт нуждается в инструкции по эксплуатации, поскольку регистрация на веб-платформе BioUML не работает (сервер возвращает ошибку 500).
3. В разделе «Научная новизна» автор говорит о верификации результатов работы модели в исследовании М. Г. Калюжной, но не указывает ссылки на источник или публикацию.
4. Рекомендую авторам рассмотреть регистрацию программ и моделей в Роспатенте для защиты интеллектуальной собственности.»

3. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН) подписал **Бирюков Михаил Юрьевич**, кандидат биологических наук, научный сотрудник.

Замечания. «Монументальность работы заключена в 182 страницах машинописного текста, для простоты понимания структурированного в три-четыре уровня. Этот, казалось бы, отличный ход изложения мыслей, всё же допускает определённые огрехи в формулировке мыслей соискателя.»

4. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН) подписал **Казанцев Федор Владимирович**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Замечания. «Формулировки задач в автореферате более скромные чем полученные результаты, которые сложно передать в формате автореферата. В качестве замечаний могу отметить, что в тексте есть пара досадных грамматических ошибок и опечаток вида: «...(3) показано что повышенный уровень гена fae1-2,...». В автореферате нет информации, выложены ли в публичный доступ наборы параметров и авторские версии метаболической модели iIA409.»

5. Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» подписал **Захарцев Максим Владимирович**, PhD по биохимии, ведущий научный сотрудник.

Без замечаний.

Выбор членов диссертационного совета обосновывается требованиями, установленными Положением о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус» (в действующей редакции). Члены диссертационного совета являются ведущими, компетентными, признанными научным сообществом специалистами. Их списки научных трудов за последние 5 лет в ведущих биологических журналах свидетельствуют о том, что каждый из членов диссертационного совета является квалифицированным специалистом в области биоинформатики и регуляторной геномики. Доля членов диссертационного совета, имеющих совместные публикации с соискателем, не превышает 1/2 от общего количества членов диссертационного совета.

В соответствии с пунктами 3.8 и 3.10 Положения о присуждении ученых степеней АНОО ВО «Университет «Сириус» назначение официальных оппонентов и ведущей организации не требуется.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований показано, что модуль BioUML-CBM,

разработанный в составе компьютерной системы BioUML, представляет собой мощный инструмент для реконструкции контекст-зависимых потоковых моделей, их численного анализа и модификации с учетом синтеза произвольных комбинаций рекомбинантных и маркерных белков метанотрофными организмами. **Показано**, что с помощью теоретического анализа контекст-зависимых потоковых моделей для *Methylovibrio alcaliphilum* 20Z^R была предсказана ранее не описанная функция гена *fae1-2* при росте организма в присутствии La³⁺. **Доказана** активность вольфрам-зависимой формиатдегидрогеназы в метаболизме метанотрофа как при наличии Ca²⁺, так и La³⁺ в среде культивирования. **Показано** участие альтернативного (восходящего) пути в дыхательной цепи, обеспечивающего перенос электронов от метанолдегидрогеназы к метанмонооксигеназе. **Показано**, что численный анализ расширенной потоковой модели метаболизма *Methylovibrio alcaliphilum* 20Z^R позволяет выявить ряд потенциально эффективных генетических модификаций, способствующих усиленному синтезу аминокислот и обеспечивающих одновременное повышение продукции рекомбинантных белков и биомассы клеточной культуры.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что на основе серии контекст-зависимых потоковых моделей, разработанных для *Methylovibrio alcaliphilum* 20Z^R при его росте в среде, содержащей Ca²⁺ или La³⁺, установлено повышение активности вольфрам-зависимой формиатдегидрогеназы, ассоциированной с присутствием иона W⁴⁺. Выявлено усиление активности тетрагидрометаноптеринового (H₄MPT) пути в условиях роста в присутствии La³⁺. Показано, что повышение экспрессии гена *fae1-2*, зафиксированное в транскриптомных данных, не оказывает влияния на активность H₄MPT-пути. Предсказана новая функциональная роль гена *fae1-2*, заключающаяся в участии в реакции конденсации формальдегида и тетрагидрофолата. Численный анализ модели при метан-лимитированных условиях культивирования в присутствии La³⁺ выявил снижение активности

Н₄МРТ-пути и одновременное усиление рибулозомонофосфатного (RuMP) пути. Также показана более значимая роль восходящего механизма переноса электронов по сравнению с прямым путем, предполагавшимся ранее. В рамках расширения исходной модели iA409 были разработаны четыре модифицированные версии, описывающие биосинтез рекомбинантных белков (GFP или β -казеина) в комбинации с маркерными белками (Catcher или TAG) с учетом экспериментально измеренных затрат АТФ на синтез и транспорт белков. На основе анализа этих моделей выявлены потенциально эффективные генетические модификации, направленные на повышение продуктивности рекомбинантных белков за счёт перестройки метаболизма цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и усиления синтеза аминокислот.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается активным использованием разработанного программного модуля BioUML-CBM в деятельности Научного центра генетики и наук о жизни, направления «Вычислительная биология» АНОО ВО «Университет «Сириус». Указанный модуль был применён в ряде научных исследований, включая оценку качества потоковых моделей аэробных метанотрофных бактерий, изучение метаболизма *Methylovibrio mobilis* *alcaliphilum* 20Z^R в различных условиях культивирования, а также анализ метаболических процессов у *Gallus gallus* и *Danio rerio* с использованием методов потокового моделирования в рамках реализации Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий. Кроме того, модуль применялся для моделирования микробного сообщества *Methylococcus capsulatus* и *Escherichia coli*.

Применительно к проблематике диссертации были результативно использованы современные подходы к реконструкции и анализу потоковых метаболических моделей. В рамках данной работы была расширена функциональность компьютерной системы BioUML для работы с такими

моделями. Были отобраны и реализованы наиболее широко используемые методы и алгоритмы, такие как CobraPy, MewPy, EscherPy, RPTiDe, Biopython, зарекомендовавшие себя в системной биологии, что обеспечило воспроизводимость и удобство практического применения. Программная реализация выполнена в виде кода доступного в среде разработки Jupyter Notebook, размещенного в открытом доступе, а также в виде специализированного модуля BioUML-CBM, интегрированного в компьютерную систему BioUML.

С использованием модуля BioUML-CBM были реконструированы четыре контекст-зависимые потоковые модели метанотрофного организма *Methylovibrio alcaliphilum* 20Z^R. Реконструкция основана на ранее разработанном и верифицированной алгоритме, предполагающем наложение ограничений на границы скоростей реакций на основе данных об уровне экспрессии генов, что существенно повышает точность моделирования в условиях, приближенных к физиологическим.

Для валидации моделей применялись как опубликованные ранее, так и новые экспериментальные данные, полученные в сотрудничестве с научной группой профессора М. Г. Калужной (Университет Сан-Диего, США). При расширении модели, описывающей синтез рекомбинантного белка метанотрофом 20Z^R, были использованы экспериментально измеренные оценки вклада аминокислот в состав биомассы и затрат АТФ на синтез и транспорт белков. Оптимизация биосинтетических процессов осуществлялась с использованием инструмента OptFlux, широко применяемого в биотехнологических исследованиях для задач метаболической инженерии.

Оценка достоверности результатов обеспечивалась применением современных и методов потокового моделирования и ранее экспериментально верифицированной потоковой моделью iA409, а также использованием экспериментальных данных на этапах реконструкции и анализа моделей.

Результаты численного моделирования сопоставлялись с опубликованными данными о метаболизме метанотрофных бактерий, что позволило подтвердить обоснованность принятых допущений и используемых подходов. Дополнительную проверку обеспечило использование оригинальных экспериментальных данных, специально полученных для валидации предсказаний моделей в рамках настоящего исследования. Экспериментальная верификация ключевых численных результатов была проведена в сотрудничестве с научной группой профессора М. Г. Калужной (Университет Сан-Диего, США).

Материалы диссертационной работы прошли апробацию в рамках гранта РНФ № 23-24-00606, а также были представлены на ряде крупных научных мероприятий, включая IV Российский микробиологический конгресс (Томск, 2022), VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Саратов, 2024), конференции BGRS/SB (Новосибирск, 2022, 2024). Основные результаты опубликованы в рецензируемых научных журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science, что также подтверждает их научную значимость и признание в профессиональном сообществе.

Личный вклад автора заключается в разработке модуля для построения контекст-зависимых потоковых моделей в рамках компьютерной системы BioUML, в отборе и отладке взаимодействия между библиотеками и реализации оригинальной библиотеки `bioumlpy`, код которой находится в открытом доступе. Автором проведены реконструкция контекст-зависимых потоковых моделей для условий роста на метане и для условий роста при ограниченной доступности метана с добавлением в среду Ca^{2+} или La^{3+} и последующий их численный анализ, интерпретация полученных данных с использованием метаболических карт. Также автором самостоятельно проведена модификация моделей для учёта синтеза рекомбинантных белков, включая создание и численный анализ полученных математических моделей.

Полученные соискателем научные результаты 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).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует 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.

На заседании диссертационного совета НТУ.1.5.8.06 АНОО ВО Университет «Сириус» 20 мая 2025 г., принято решение о присуждении ученой степени кандидата биологических наук Куляшову Михаилу Андреевичу за решение научной задачи, связанной с разработкой и применением нового программного модуля BioUML-CBM для реконструкции и анализа контекст-зависимых потоковых моделей метаболизма, имеющей фундаментальное значение для исследования метаболических процессов у метанотрофных микроорганизмов, а также для решения прикладных задач метаболической инженерии и оптимизации продукции рекомбинантных белков методами системной и вычислительной биологии.

Присутствовало на заседании 6 членов совета, в том числе докторов наук по научной специальности, отрасли науки рассматриваемой диссертации 6.

При проведении тайного голосования члены диссертационного совета по вопросу присуждения ученой степени проголосовали:

«за» – 6;

«против» – 0.

Председатель

диссертационного совета НТУ.1.5.8.06,

доктор химических наук, профессор

А.В. Головин



Ученый секретарь

диссертационного совета НТУ.1.5.8.06,

кандидат биологических наук

С.К. Колмыков

20 мая 2025 г.