

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета НТУ.1.5.8.06
Лашина Сергея 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

Использование методов математического моделирования для предсказания метаболических свойств микроорганизмов, может существенно помочь ускорению конструирования биотехнологически значимых штаммов микроорганизмов, и является одним из наиболее успешных примеров применения системной биологии и биоинформатики для решения прикладных задач. В этой связи диссертация Куляшова Михаила Андреевича с очевидностью является актуальным исследованием, особенно учитывая тот факт, что объектом его изучения является метанотрофный микроорганизм *Methylovulum microbium alcaliphilum* 20Z^R. Запасы метана в мире и в Российской Федерации, в частности, очень велики. Зачастую метан в виде попутного газа попусту сжигается, при этом стоимость его ниже, чем у других источников углерода, используемых в биотехнологической промышленности.

Методический арсенал, используемый Михаилом Андреевичем в диссертации, включающий как классические подходы потокового моделирования, так и более современные методы контекст-зависимого моделирования, а также ряд биоинформатических методов, вполне соответствует выбранной цели и задачам, и свидетельствует о высокой квалификации соискателя.

Исходя из вышесказанного, диссертационная работа Куляшова М.А. является актуальной как с практической точки зрения, так и с точки зрения фундаментальных исследований микроорганизмов-метанотрофов.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация имеет классическую для данной специальности структуру и включает главы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Заключение» и «Выводы». В тексте также приведены списки: публикаций по теме диссертации, сокращений и условных обозначений, цитируемой литературы. В конце работы приведены шесть Приложений.

Общий объём диссертации составляет 182 страницы. Текст содержит 60 рисунков и 25 таблиц. Список цитируемой литературы включает 230 ссылок.

Во введении обосновывается актуальность темы исследования, описывается степень разработанности темы, приводятся цель и задачи диссертационного исследования. Далее описываются научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационной работы, краткое описание методологии и методов исследования. Приводятся положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробации результатов, указывается личный вклад автора диссертации.

Литературный обзор изложен на 60 страницах и включает описание различных аспектов, относящихся к исследованию – общее описание центрального метаболизма у бактерий; метаболические пути утилизации метана и метанола; методы математического моделирования; объект исследования и краткое заключение по литературному обзору. Биологические аспекты, относящиеся к описанию метаболических путей как центрального метаболизма, так и утилизации метана и метанола описаны достаточно подробно и обильно проиллюстрированы. Это относится и к описанию основных ферментов метаболизма метана и метанола у *Methylovibrio mobilis* – метанмонооксигеназам и метанолдегидрогеназе. Описание методов математического моделирования сосредоточено на методах потокового моделирования в условиях достижения культурой клеток стационарного состояния. Далее приведено описание баз данных геномов и программ для автоматической реконструкции потоковых моделей, что демонстрирует глубокую проработку данной тематики автором диссертации.

Глава «Материалы и методы» содержит описание экспериментальных данных по *M. alcaliphilum* 20ZR, включая транскриптомные данные, полученные для разных условий культивирования бактерии, и данные по аминокислотному составу целевых белков с оценками энергетических затрат на их синтез и транспорт. В главе также описаны методы анализа транскриптомных данных (стандартный набор методов) и их интеграции в математическую модель iLA409 (собственный код, реализованный автором диссертации, и интегрированы в платформу BioUML). Глава заканчивается описанием процесса модификации математической модели iLA409 для оценки продукции целевого белка.

В заключительной главе «Результаты и обсуждения» представлены основные результаты диссертационной работы. Они включают в себя анализ транскриптомных данных с целью выявления генов, дифференциально экспрессирующихся при разных условиях культивирования *M. alcaliphilum* 20ZR, описание разработки программного модуля BioUML-CBM и результаты

математического моделирования метаболизма *M. alcaliphilum* 20ZR. Описана модификация исходной модели iLA409 с помощью интеграции в неё транскриптомных данных, а также анализ полученных контекст-зависимых моделей. Последний раздел этой главы посвящён описанию модификации модели для предсказания оптимизации продукции рекомбинантных белков, и применению модифицированной модели для трёх белков.

В разделе «Заключение» кратко суммируется основное содержание работы. В разделе «Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы» приведены планы по дальнейшей разработке темы.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Новизна результатов диссертационной заключается, прежде всего, в том, что впервые были построены контекст-зависимые модели метаболизма метанотрофной бактерии *M. alcaliphilum* 20ZR. Эти модели существенно дополнили возможности моделирования метаболических процессов и их регуляции по сравнению с моделью iLA409, имевшейся к моменту начала работы над диссертацией. Использование контекст-зависимого подхода позволило выявить ряд предположений о роли некоторых ферментов в метаболизме *M. alcaliphilum* 20ZR, а также предсказать целевые генетические модификации для оптимизации производства рекомбинантного белка и роста биомассы. Некоторые из полученных предсказаний уже подтверждены экспериментально коллегами Куляшова М.А. Во-вторых, в работе представлены разработанные программные модули, интегрированные в платформу BioUML, которые позволяют снизить «входной порог» в область математического моделирования метаболизма бактерий.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая ценность работы состоит, прежде всего, в расширении спектра применения контекст-зависимого подхода потокового моделирования для метанотрофных микроорганизмов. Немаловажен и вклад в расширение инструментария системных биологов за счёт разработки нескольких программных модулей и интеграции их в платформу BioUML.

Практическая ценность работы состоит в серии предсказаний моделей, которые могут использоваться в качестве рекомендаций по генетической модификации *M. alcaliphilum* 20ZR генетическими инженерами и биотехнологами.

Отмечу также, что программа BioUML-CBM используется как для решения содержательных биологических задач в Университете Сириус и КФУ, так и в образовательных целях.

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

Научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации, подтверждены сравнением результатов математического моделирования с данными, опубликованными в научной литературе и полученными на основе серии экспериментов, выполненных в лаборатории профессора М. Г. Калюжной (Сан-Диего, США). В диссертации продемонстрировано хорошее совпадение предсказанных значений характеристик с их экспериментальными оценками.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации

Содержание автореферата в целом соответствует содержанию, основным положениям, результатам и выводам диссертации.

Оценка диссертационного исследования

Диссертационная работа Куляшова Михаила Андреевича представляет законченное научное исследование. В диссертации решен ряд задач по моделированию метаболизма метанотрофных бактерий *M. alcaliphilum* 20ZR. Создан ряд программных модулей по построению и анализу контекст-зависимых потоковых моделей. Созданы и проанализированы модели, описывающие рост *M. alcaliphilum* 20ZR в разных условиях культивирования: в присутствии/отсутствии ионов металлов (Ca^{2+} , Cu^{2+} , W^{4+} , La^{3+} , As^{3+}), при разных источниках углерода (метан, метанол, ксилоза), в аэробных и анаэробных условиях (всего 23 уникальных экспериментальных условий).

В диссертации предложены потенциальные генетические модификации, из которых наибольший интерес представляют связанные с повышением синтеза аминокислот. Показано, что список потенциальных модификаций чувствителен к аминокислотному составу рекомбинантного и маркерного белков. Предложены гипотеза о функции фермента Fae1-2, связанная с конденсацией формальдегида и тетрагидрофолата.

Основные результаты диссертации представлены в трёх публикациях в журналах, относящихся к Q1 и Q2 категориям в системе цитирования Web Of Science, а также в 8 тезисах российских и международных научных конференций.

Диссертация полностью соответствует паспорту научной специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика».

Замечания по диссертации

1. Несмотря на довольно объёмный литературный обзор, в статье практически не цитируются работы на русском языке. В частности, никак не упомянуты работы по генным сетям и методам их моделирования.

2. На странице 4, во введении, первые два абзаца представляют собой малосвязанные предложения. Такое же замечание к последнему предложению раздела «Теоретическая значимость».
3. Положение, выносимое на защиту под номером 3 сформулировано, на мой взгляд, чересчур общо. Хотелось бы в нём увидеть конкретные генетические модификации, связанные с увеличением синтеза аминокислот. Тем более, результаты для этого имеются.
4. Довольно большая часть рисунков имеет очень мелкие и сложно читаемые надписи.
5. В разделе 1.3.1. в предложении «В Европе ... в связи с тем, что белки микробного происхождения дают более *высокие урожаи* по сравнению с другими источниками белка ...» не понятно, какие именно «урожаи» имеются ввиду. Не является ли этот фрагмент машинным переводом?
6. В целом, в литературном обзоре достаточно много ссылок на статьи с авторством соискателя. В том числе, и в разделах, описывающих актуальность исследования. Это выглядит странно.
7. В разделе 1.4 не очень понятно, зачем столь подробно описывать функциональность сторонних программ. На мой взгляд, вполне хватило бы таблицы 1.4.1 и краткого текстового пояснения к ней.

Отмеченные недостатки не снижают высокого 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 Куляшова Михаила Андреевича является законченной научно-квалификационной работой, в которой изложены важные результаты по моделированию метаболизма метанотрофных микроорганизмов. Приведены важные методические результаты по разработке новых инструментов моделирования. Приведён ряд важных модельных предсказаний, часть из которых уже была экспериментально верифицирована.

Диссертационная работа Куляшова Михаила Андреевича «Изучение метаболизма аэробного метанотрофа *Methylovimicrobium 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.
ведущий научный сотрудник
ФИЦ ИЦиГ СО РАН,
г. Новосибирск

Лашин
Сергей
Александрович



05.05.2025

Сведения:

Лашин Сергей Александрович

Докторская диссертация защищена по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика.

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

Адрес организации: 630090, Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, д.10

Телефон: +7 (383) 363-49-63

e-mail: lashin@bionet.nsc.ru

Подпись Лашина С.А. заверяю
Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН



 Орлова Г.В.