

ОТЗЫВ

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

Актуальность темы диссертации

Актуальность работы обуславливается выбором объекта исследования и современных методов анализа. Метан – ценный энергоресурс, но при этом один из основных парниковых газов и продукт переработки отходов. Поиск экологичных и экономически выгодных способов утилизации метана ключевой задачей. Особый интерес представляют метанотрофные бактерии, способные использовать метан как единственный источник углерода и энергии. Среди них галоалкалофильные штаммы, такие как *Methylovulum acidophilum* 20ZR. Хотя основные пути метаболизма метана у метанотрофов известны, остаются неясными молекулярные механизмы адаптации к условиям среды. Для решения этих задач применяют методы системной биологии, в частности потоковое моделирование (FBA), позволяющее оценивать скорости ферментативных реакций и рост культуры без детальных кинетических данных. Для 20ZR уже существуют экспериментально подтверждённые модели. Современные контекстно-зависимые модели расширяют возможности изучения метаболизма в разных условиях. В связи с этим актуальность темы не вызывает сомнений.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа выстроена традиционно и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, основные результаты и выводы, а также список литературы и список сокращений. Работа содержит 182 страницы машинописного текста, 62 рисунка и 25 таблиц. Список литературы включает 230 отечественных и зарубежных источников.

Содержание автореферата соответствует содержанию, основным положения и результатам диссертации.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Научная новизна работы заключается в разработке модуля BioUML-SBM, расширяющего функционал платформы BioUML для интеграции современных инструментов потокового моделирования на Python с доступом через Jupyter Notebook. Впервые проведена интеграция транскриптомных данных в метаболическую модель штамма 20ZR, что позволило реконструировать четыре контекст-зависимые модели, описывающие особенности метаболизма в различных условиях культивирования. С помощью этих моделей выявлены ключевые изменения в метаболических путях, включая усиление роли W-зависимой форматдегидрогеназы при действии ионов кальция и лантана, а также установлена новая функция гена *fae1-2* в конденсации формальдегида с тетрагидроfolатом. Разработана расширенная версия модели iIA409, впервые позволяющая прогнозировать продукцию рекомбинантных белков в зависимости от используемого маркерного белка. Полученные результаты, включая предсказания по генетическим модификациям для повышения продуктивности штамма, были экспериментально.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Анализ серии контекстно-зависимых моделей метаболизма *Methylovibrio mobilis* 20ZR выявил ключевые изменения при росте в присутствии $\text{Ca}^{2+}/\text{La}^{3+}$: усиление активности W-зависимой форматдегидрогеназы; повышение активности H_4MPT -пути под действием La^{3+} ; отсутствие влияния гена *fae1-2* на H_4MPT , несмотря на его повышенную экспрессию; новая роль *ae1-2* в конденсации формальдегида с тетрагидроfolатом. При лимите метана с La^{3+} обнаружено подавление H_4MPT при активации рибулозомонофосфатного пути и доминирование восходящего механизма переноса электронов.

На основе модели iIA409 разработаны 4 расширенные версии, предсказывающие синтез рекомбинантных белков (GFP/ β -казеин) с маркерами (Catcher/TAG), включая затраты АТФ. Выделены перспективные мишени для генетической оптимизации, связанные с ЦТК и биосинтезом аминокислот, для повышения продуктивности штамма.

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

Диссертационная работа обладает высокой степенью обоснованности, которая обеспечивается современными экспериментальными и вычислительными подходами, использованными в работе, проведении необходимого количества сравнительных анализов и валидационных предсказаний, сравнением с литературными данными.

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.

В диссертации решены задачи разработки модуля BioUML-CBM, интегрирующий инструменты потокового моделирования для работы с контекст-зависимыми моделями; впервые интегрированы транскриптомные данные в модель *Methylovibrio alcaliphilum* 20ZR для разных условий культивирования; Разработаны 4 версии модели, предсказывающие синтез рекомбинантных белков и выявлены генетические модификации для увеличения продукции белков, связанные с ЦТК и синтезом аминокислот.

В диссертации приведены данные об новой функции гена *fae1-2*, это конденсация формальдегида с тетрагидрофолатом, отличающаяся от классического *fae*. Опровергнуто влияние *fae1-2* на активность H_4 MPT-пути. Показана невозможность углеродного потока через фосфокетолазу.

Основные результаты диссертации представлены в 3ех опубликованных работах, отражающих основные положения исследования, среди которых – 3 работы в рецензируемых журналах, индексируемых в базе Scopus и WoS и 8 работ в сборниках конференций.

Диссертация соответствует пп.1-3 паспорта научной специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика.

Замечания по диссертации

1. Хотя в работе представлены предсказания, основанные на моделях, экспериментальное подтверждение новой функции гена *fae1-2* требует более подробной статистической обработки данных.
2. Исследование охватывает специфические условия культивирования, а именно присутствие Ca^{2+}/La^{3+} , но слабо обсуждается химические причины использования экзотического иона La^{3+} для активности фермента.
3. Работа опирается на метод потокового моделирования, однако не обсуждаются его ограничения в сравнении с другими методами системной биологии, например, динамическим моделированием.
4. Выявленные мишени, связанные с ЦТК и биосинтезом аминокислот, требуют более детального обоснования их выбора, включая потенциальные побочные эффекты модификаций на другие метаболические пути

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 решения задачи разработки модуля BioUML-CBM, интегрирующий инструменты потокового моделирования для работы с контекст-зависимыми моделями; впервые интегрированы транскриптомные данные в модель *Methylovibrio alcaliphilum* 20ZR для разных условий культивирования; Разработаны 4 версии модели, предсказывающие синтез рекомбинантных белков и выявлены генетические модификации для увеличения продукции белков, связанные с ЦТК и синтезом аминокислот. В диссертации приведены данные об новой функции гена *fae1-2*, это конденсация формальдегида с тетрагидрофолатом, отличающаяся от классического *fae*. Опровергнуто влияние *fae1-2* на активность H_4MPT -пути. Показана невозможность углеродного потока через фосфокетолазу

Диссертационная работа Куляшова Михаила Андреевича «Изучение метаболизма аэробного метанотрофа *Methylovibrio 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.х.н.,
профессор
АНОО ВО «Университет «Сириус»,
федеральная территория «Сириус»

Головин Андрей
Викторович

Дата 5.05.2025



Сведения:

Головин Андрей Викторович

Докторская диссертация защищена по специальности
02.00.10 - Биоорганическая химия (хим. науки)

Автономная некоммерческая образовательная организация высшего
образования «Научно-технологический университет «Сириус»

Адрес организации: 354349, Российская Федерация, Краснодарский край,
федеральная территория «Сириус», Олимпийский проспект, д.1

Телефон: +7-964-710-9158

e-mail: golovin.av@talantiuspeh.ru