

Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук Алешкина Андрея Владимировича на диссертацию Кузьмина Дениса Владимировича на тему «Разработка платформы по получению биологически активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов», представленную на соискание степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Диссертационная работа Кузьмина Д.В. посвящена стратегически востребованной области - созданию новых технологий использования возобновляемых сырьевых ресурсов, а также реализации биотехнологического потенциала фотосинтезирующих микроорганизмов.

Фотосинтезирующие микроорганизмы - это разнородная группа одноклеточных и колониальных организмов, представленных преимущественно эукариотическими микроводорослями и цианобактериями. Микроводоросли способны быстро накапливать биомассу, богатую активными веществами, используя углекислый газ как основной источник углерода и солнечный свет в качестве источника энергии.

Несмотря на то что последние десятилетия интерес к области промышленной биотехнологии с использованием микроводорослей неуклонно растет, создание новых биопродуктов из фотосинтезирующих микроорганизмов сталкивается с несколькими трудностями: недостаточное понимание основных аспектов метаболизма микроводорослей; ориентация на оптимизацию характеристик уже известных промышленных штаммов микроводорослей или поиск новых штаммов, которые могут производить коммерчески успешные биопродукты; отсутствие универсальных протоколов для культивирования, обусловленное большим количеством видов и разнообразием экологических ниш; низкая воспроизводимость роста и продуктивности штаммов как в лабораторных, так и в промышленных условиях. Таким образом, разработка подходов, позволяющих пройти полный цикл от выделения новых штаммов микроорганизмов и проведения их биохимического скрининга до идентификации отдельных биологически активных молекул, является крайне востребованной и не решенной на сегодняшний день задачей, а диссертационная работа Кузьмина Д.В. является актуальной и обладающей практической значимостью.

Диссертационная работа Кузьмина Д.В. представлена в традиционном формате, включающем аналитический обзор, методологию проведения исследований, пять основных разделов, описывающих ключевые результаты исследований («Изучение

биотехнологического потенциала выделенных штаммов фотосинтезирующих микроорганизмов и оптимизация условий полупромышленного культивирования», «Изучение возможности использования биомассы выделенных штаммов фотосинтезирующих микроорганизмов в аквакультуре», «Изучение антимикробных веществ, продуцируемых фотосинтезирующими микроорганизмами», «Разработка методов широкомасштабного скрининга *in silico* экстрактов фотосинтезирующих микроорганизмов для выявления биологически активных молекул», «Разработка интегральной платформы для изучения биотехнологического потенциала фотосинтезирующих микроорганизмов»).

Впечатляет объём и разнообразие проведенной автором экспериментальной работы. Раздел «Методология проведения исследований» включает более 40 исследовательских методик, затрагивающих разнообразные отрасли современной исследовательской практики: от классической микробиологии до биоинформатического анализа дифференциальной экспрессии генов. Приведённые статистические методы обработки результатов, делают исследование убедительным и достоверным.

Основные результаты, представляющие предмет научной новизны и имеющие практическое значение, на мой взгляд, состоят в следующем:

- выполнен большой объём работы по выявлению, идентификации и получению характеристик-паспортов различных микроводорослей и цианобактерий, охарактеризованы штаммы и их потенциальная продуктивность по синтезу липидов, полиненасыщенных жирных кислот и вторичных каротиноидов. Это большая работа, которая характеризует диссертанта как квалифицированного специалиста, владеющего техникой культивирования организмов и анализа полученных результатов;

- для наиболее перспективных штаммов проведено детальное исследование ростовых характеристик в различных условиях и на различных средах, в том числе проведены эксперименты по оптимизации интенсивности освещенности, содержания фосфатов и нитратов и др. для увеличения продукционных характеристик штаммов;

- диссертант проявил себя как квалифицированный биохимик, способный объяснить наблюдаемые изменения метаболизма на химическом уровне. Полученные результаты и их интерпретация позволили соискателю для наиболее перспективных штаммов предложить технологические регламенты выращивания в полупромышленных системах культивирования;

- диссертантом выполнена высококвалифицированная работа по изучению антибиотической активности культуральной жидкости фототрофного микроорганизма, включающая в себя: обнаружение соответствующего биологического эффекта, идентификация конкретного соединения, химическую оптимизацию свойств исходной

молекулы, тестирование на клинических изолятах метициллин-резистентного стафилококка (MRSA), а также проведение всего спектра фармакокинетических исследований. Показано, что разрабатываемый антибиотик можно отнести к 3-му классу умеренно опасных веществ и рекомендовать для дальнейшего исследования эффективности на модели инфекции кожи и мягких тканей, вызванной MRSA;

- диссертант впервые применяет технологию профилирования уровня активации внутриклеточных сигнальных путей для оценки противоопухолевой активности тотальных экстрактов биомассы 50 различных фототрофных микроорганизмов. В результате удается убедительно продемонстрировать корреляцию ожидаемого и фактически наблюдаемого цитотоксического эффекта экстрактов. Для одного из экстрактов предсказанные внутриклеточные мишени соответствуют механизму действия очищенного и идентифицированного действующего вещества. Эта часть работы характеризует диссертанта как квалифицированного специалиста в области цитологии и биоинформатики;

- технологическая значимость обсуждаемой диссертационной работы продемонстрирована автором путем создания, обоснования и экспериментальной реализации комплексной схемы-платформы для изучения фототрофных микроорганизмов. Фактическими продуктами, возникающими при внедрении предложенной методологии, могут быть липиды, полиненасыщенные жирные кислоты, антиоксиданты, антибиотики и цитотоксические агенты. Полученные результаты характеризуют Кузьмина Д.В. как высококвалифицированного специалиста в области современной биотехнологии.

Теоретические и практические положения, основные выводы диссертационной работы обоснованы, что подтверждается корректным применением комплекса методов, использованных в работе, согласовании новых результатов с известными теоретическими положениями и статистическими данными. Достоверность полученных результатов исследований подтверждается корректным применением вышеперечисленных научных методов и их соответствующей статистической обработкой.

Основные результаты диссертации представлены в 9 печатных работах, опубликованных в высокорейтинговых профильных изданиях (3 в журналах Q1 и 6 – в Q2), одной главе монографии и трех патентах РФ. Автор многократно представлял результаты работы на российских и международных конференциях.

По представленной диссертации возникли следующие вопросы:

1. В работе использовано очень большое количество штаммов водорослей и цианобактерий, но четко не обозначен принцип отбора штаммов для работы, например,

почему по количеству преобладают диатомовые? Может ли автор пояснить принципы выбора штаммов из различных таксономических групп микроводорослей?

2. Диссертация написана достаточно живым языком, иногда даже хочется получить дополнительную информацию по ряду использованных терминов. Например, что автор подразумевает под термином «штамм-блокбастер» на стр. 231 (цитата: «С точки зрения автора, такой подход может приводить лишь к еще одному перспективному продуценту, но редко позволяет открыть штамм-блокбастер»)?

3. В разделе Методология и методы исследования приведён раздел по оценке жизнеспособности лиофилизата водорослей, в связи с чем была поставлена такая задача и почему автором не приведены результаты по этим работам в тексте диссертации?

4. Автор использовал в работе несколько подходов к оптимизации выхода целевого продукта. Основными можно считать оптимизацию условий культивирования и синтез веществ с антибиотической активностью искусственным путём. Какой путь для каких классов соединений, содержащихся в водорослях, следует считать оптимальным по мнению автора?

Тем не менее, приведенные вопросы не умаляют значимости полученных результатов, не меняют основные выводы, сформулированные в диссертации, не снижают общей высокой оценки работы. Представленные в работе данные хорошо аргументированы и убедительны. Полученные результаты вносят большой вклад в понимание биологии микроводорослей, дают основу для изучения ранее не задействованных в биотехнологии фототрофных микроорганизмов и, в конечном итоге, создают возможность получения востребованных конечных биопродуктов при одновременном сокращении временных и человеческих ресурсов на поисковые исследования. Комплекс проведенных автором исследований можно рассматривать как значительное научное достижение в области биотехнологии. Защищаемые положения отражены в опубликованных материалах. Выводы, полученные в результате проведенных исследований, соответствуют задачам, поставленным перед автором диссертации. Автореферат соискателя в полной степени отражает положения, выводы и рекомендации, содержащиеся в диссертации.

Считаю, что диссертационная работа Кузьмина Дениса Владимировича «Разработка платформы по получению биологически активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов» по актуальности темы, теоретической и практической значимости результатов соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 .г N842

(ред. от 26.01.2023), и представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, а её автор Кузьмин Денис Владимирович заслуживает присуждения ученой степени доктора наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

член-корреспондент РАН,

профессор РАН,

директор по новым продуктам

Общества с ограниченной ответственностью «Орфан-Био»

доктор биологических наук

по специальности 03.01.06 – Биотехнология;

03.02.03 - Микробиология,

Алешкин Андрей Владимирович

20.03.2025

Алешкин

Контактные данные:

тел.: 8-964-646-43-79

e-mail: andreialeshkin@gmail.com

ООО «Орфан-Био», 354340, РФ, Краснодарский край, Сириус ф.т., Сириус пгт.,

Триумфальный пр-д, д. 1, помещ. 2-037/16, Тел. +7 911 220-28-88

e-mail: i.volkova@orphanbio.ru

Подпись Алешкина Андрея Владимировича заверяю:

Генеральный директор ООО «Орфан-Био»

Кандидат технических наук

Волкова И.М.

