

Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук Гайсиной Лиры Альбертовны 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

Актуальность исследования

Микроводоросли активно применяются в области промышленной биотехнологии начиная с 70-х годов прошлого века, однако потенциал этих микроорганизмов остается в значительной степени нереализованным как в контексте новых источников биологически активных молекул, так и в аспекте оптимизации выхода целевых продуктов для изученных штаммов. На сегодняшний день в промышленном масштабе культивируется лишь ограниченное количество штаммов, а большинство исследований сосредоточено на улучшении характеристик уже известных штаммов-продуцентов. При этом выделение и идентификация веществ, отвечающих за конкретные биологические эффекты, по-прежнему представляет собой отдельную проблему из-за широкого спектра соединений, которые должны быть идентифицированы. В тоже время биологически активные соединения из микроводорослей, такие как пигменты, витамины, антибиотики и др. крайне востребованы в медицине и сельском хозяйстве. Учитывая вышеизложенное, диссертационное исследование Кузьмина Д.В. посвящено разработке альтернативных подходов к изучению фототрофных микроорганизмов для поиска новых источников биологически активных соединений, поэтому его актуальность как для биотехнологии, так и микробиологии в целом, не вызывает сомнения.

Структура диссертационной работы

Диссертация Кузьмина Д.В. изложена на 306 страницах текста, состоит из глав «Введение», «Аналитический обзор. Состояние и перспективы развития биотехнологии фотосинтезирующих микроорганизмов, базирующейся на новых подходах к получению эффективных штаммов-продуцентов соединений с высокой добавочной стоимостью», «Методологии проведения 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», а также «Выводы», «Заключение», «Список сокращений», «Список литературы» и «Приложения». Работа иллюстрирована 58 рисунками и содержит 45 таблиц. Список литературы насчитывает 566 наименований.

Основные результаты были получены лично автором, либо под его непосредственным руководством. Диссертационная работа прошла апробацию на 18 российских и международных научных конференциях, результаты исследования изложены в 9 публикациях в журналах из перечня ВАК, из которых 3 – статьи в журналах Q1 Web of Science. Результаты исследования опубликованы в высокорейтинговых журналах, таких как *Algal Research*, *Marine Drugs*, *Journal of Applied Phycology* и другие. Опубликовано 1 глава в монографии, зарегистрировано 3 патента РФ, что подчеркивает практическую значимость работы.

Во «Введении» Кузьмин Д.В. приводит обоснование актуальности выбранной темы, определяет цель работы (создание биотехнологической платформы для получения биологически активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов) и фиксирует шесть основных задач, необходимых для достижения поставленной цели. Далее Кузьмин Д.В. последовательно дает авторскую оценку научной новизны и практической значимости выполненной диссертационной работы, приводит положения, выносимые на защиту.

В аналитическом обзоре Кузьмин Д.В. подробно рассматривает современное состояние и перспективы развития биотехнологии фотосинтезирующих микроорганизмов. Первая часть обзора посвящена описанию и классификации микроводорослей и цианобактерий. Затем автор подробно рассматривает широкий перечень биопродуктов, получаемых из фотосинтезирующих микроорганизмов, делая акцент на их биотехнологическом получении. Далее автор описывает ключевые параметры культивирования микроводорослей и проводит анализ методов промышленного культивирования фототрофных микроорганизмов. В следующем разделе освещаются современные подходы к повышению эффективности штаммов-продуцентов, а также передовые технологии высокопроизводительного скрининга микроорганизмов. Автор завершает обзор подробным описанием понятия «платформа» в науках о живом и приводит примеры платформенных решений в области медицины и биотехнологии. Аналитический обзор подробный, написан понятным языком, содержит наиболее

актуальную научную информацию. При прочтении обзора формируется общее представление о значимости изучения фототрофных микроорганизмов, их потенциале в качестве источника биологически активных молекул и перспективности создания универсальных платформенных решений для поиска биологически активных соединений. Стоит отметить, что Кузьмин Д.В. провел весьма значительную и разноплановую аналитическую работу с использованием большого числа литературных данных. Ознакомление с аналитическим обзором убедительно доказывает существование большого числа научных вопросов и проблем, на решение которых и направлена диссертационная работа Кузьмина Д.В.

В главе «Методологии проведения исследований» приведены краткая характеристика объектов исследования и описание использованных в ходе работы методов. Работа выполнена с использованием методов биотехнологического, микробиологического, биохимического, молекулярно-биологического, биоинформатического и статистического анализа. Важной особенностью диссертационной работы является широкая палитра самых современных методов как экспериментальной, так и вычислительной биологии, работа в моделях *in vitro* и *in vivo*. Диссертантом также применялись различные методы культивирования и молекулярной идентификации штаммов, химический анализ биомассы микроорганизмов, изучение антибиотического, гемолитического и цитотоксических эффектов на клеточных моделях и др. Кроме того, особого внимания заслуживает описание методов полупромышленного культивирования фототрофных микроорганизмов. В целом, протоколы, приведённые в главе «Методологии проведения исследований», описаны детально и позволяют повторить эксперименты другими исследователями. Традиционно, наиболее объемная часть диссертационной работы посвящена результатам исследования и их обсуждению.

Глава 3 посвящена описанию и обсуждению результатов изучения биотехнологического потенциала выделенных штаммов фотосинтезирующих микроорганизмов и оптимизации условий полупромышленного культивирования. Здесь даются результаты поиска и характеристика перспективных штаммов-продуцентов липидов, фукоксантина и эйкозапентаеновой кислоты. Далее в Главе 4 приводятся результаты исследования возможности использования биомассы выделенных штаммов фотосинтезирующих микроорганизмов в аквакультуре – мальков красной тилипии. В Главе 5 дается описание результатов изучения антимикробных веществ, выделенных из культуральной жидкости консорциума микроводоросли *Dunaliella salina* с гетеротрофными микроорганизмами, в том числе нитчатым грибом *Streptomyces sp.* Глава 6 посвящена разработке методов широкомасштабного скрининга экстрактов

фотосинтезирующих микроорганизмов с целью выявления биологически активных молекул. Приводится описание технологии Онкобокс и ее возможности для применения в биотехнологии микроводорослей. Финальная Глава 7 посвящена типологизации существующих подходов к изучению фотосинтезирующих микроорганизмов и предложению принципиальной схемы оригинальной биотехнологической платформы. Следует отметить, что каждая глава с 3-й по 7-ю завершается выводами. После Главы 7 приводится 7 выводов, которые сформулированы четко и непосредственно вытекают из полученных данных. Далее дается заключение по всем полученным в ходе работы результатам исследования. В заключении кратко перечисляются самые важные результаты.

Диссертация Кузьмина Д.В. написана качественным научным языком, который легко воспринимается. Все экспериментальные данные представлены в виде таблиц и рисунков, а их обсуждение опирается на широкий спектр литературных источников. В целом, в тексте встречается лишь незначительное количество ошибок, он структурирован логично, что создает ясное впечатление о целостности и завершенности работы.

Научная новизна и практическая значимость полученных результатов

В рамках диссертации проведен скрининг и паспортизация более 200 штаммов микроводорослей и цианобактерий. Впервые выделен и охарактеризован наиболее эффективный штамм-продуцент коммерчески значимого антиоксиданта фукоксантина, и наиболее эффективный пресноводный штамм-продуцент омега-3 полиненасыщенной жирной кислоты (ЭПК). Большой интерес представляет разработанный на основе метаболита микроводоросли *Dunaliella salina* антибиотик нового класса, эффективного против метицилин-резистентного золотистого стафилококка. Физико-химические свойства исходной молекулы, обладающей антибиотическими свойствами, были существенным образом оптимизированы. Проведены исследования острой токсичности на модели лабораторных животных. В рамках диссертационной работы впервые применена технология Онкобокс для поиска новых биологически активных соединений в экстрактах биомассы фотосинтезирующих микроорганизмов. Использование технологии Онкобокс как элемента предлагаемой биотехнологической платформы было валидировано на примере соединения крипотфицин-1, выделенного из биомассы цианобактерии. Все исследования проведены на высоком уровне, что видно также по уровню статей по теме диссертации. Кроме того, полученные патенты и профиль конференций, в которых автор принимал участие, свидетельствуют о высокой практической значимости полученных результатов для микробиологической промышленности.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертационной работы

Использование для исследований современных методов биотехнологии, молекулярной биологии и биоинформатики, таких как секвенирование, проточная цитофлуориметрия и флуоресцентная микроскопия, ВЭЖХ анализ содержания фукоксантина, ЖХ/МС изучения синтетических производных природного антимикробного соединения, культивирования микроорганизмов в полупромышленных фотобиореакторах и др. подтверждают обоснованность и надежность полученных экспериментальных результатов, а также выносимых на защиту выводов и утверждений. Примененные методы исследования являются адекватными, а результаты прошли статистическую обработку. Представленные данные в таблицах, гистограммах и графиках позволяют проверить правильность расчетов и выводов, сделанных автором диссертации, с использованием соответствующих методик. Автор проводит тщательный анализ полученных результатов и оценивает достоверность различий, используя стандартные статистические подходы. Таким образом, результаты и выводы, представленные Кузьминым Д.В., являются надежными и обоснованными. Важно отметить, что основные достижения диссертации были опубликованы в авторитетных научных журналах и представлены на различных научных конференциях российского и международного уровня. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Замечания и комментарии к диссертационной работе

1. Положения 4 и 5, выносимые на защиту, сформулированы не совсем корректно. На защиту выносятся не штаммы *Mallomonas furcata* и *Vischeria magna*, а установленная способность этих штаммов синтезировать фукоксантин и эйкозопентаеновую кислоту в высоких концентрациях.

2. Обзор литературы, а также материалы и методы в автореферате представлены очень кратко, что не дает широкой аудитории по достоинству оценить глубину проведенного анализа литературы и соответствие методологии исследований цели и задачам исследования.

3. Рисунки 2 и 3, 4, 5, 7, 8, 12, 13, 14, 16, 18, 20 автореферата, а также рисунки 1, 23, 27, 33 диссертации не очень хорошо видны, было бы желательно их увеличить.

4. На страницах 13 диссертации и 7 автореферата в выражении «диатомовые (содержание фукоксантина до 21,67 мг/г сухой массы), Chrysophyceae (до 26,6 мг/г сухой массы) и Prymnesiophyceae (до 18,23 мг/г сухого веса)» вместо слова «диатомовые» лучше

было бы использовать слово «Bacillariophyceae» для унификации названий групп водорослей.

5. В тексте диссертации для рисунков 2-6 не указано, являются ли они авторскими, либо заимствованы из публикаций других авторов.

Однако сделанные замечания ни в коей мере не умаляют ценности диссертации соискателя.

Заключение

Считаю, что диссертационная работа Кузьмина Дениса Владимировича «Разработка платформы по получению биологически активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов» является законченной научно-исследовательской работой, в которой разработаны методологические подходы для синтеза ценных биотехнологических продуктов. По актуальности темы, теоретической и практической значимости результатов диссертация является крупным достижением в области биотехнологии, 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), а ее автор Кузьмин Денис Владимирович заслуживает присуждения ученой степени доктора наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук

по специальности 03.02.01 - Ботаника,

доцент, научный руководитель отдела научной работы, профессор кафедры биоэкологии и биологического образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы»

Гайсина Лира Альбертовна

12.03.2025

Контактные данные:

тел.: +79063764252

e-mail: lira.gaisina@mail.ru

450077, Республика Башкортостан, г.Уфа, ул. Октябрьской революции, д. 3-а,

тел.: +7 3472879991

Электронная почта: office@bspu.ru

Официальный сайт: www.bspu.ru

