

Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук Ревина Виктора Васильевича 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 можно условно определить как микроскопические одноклеточные, колониальные или нитевидные фотосинтезирующие организмы. Предполагается существование примерно 800 000 видов микроводорослей, из которых описано не более 10 %.

Микроводоросли и получаемые из них препараты представляют экологически ценную альтернативу фармакологическим средствам, синтезируемым химическим путем. Продукты из микроводорослей – многообещающие средства лечения и профилактики широко спектра наиболее массовых заболеваний: диабета, ожирения, болезней сердца и сосудов, рака, инсульта, болезней Альцгеймера и Паркинсона. Они также часто являются эффективными антибактериальными, противогрибковыми и противовирусными агентами.

В то же время биотехнологическое применение микроводорослей наталкивается на ряд существенных ограничений. Для многих веществ, получаемых на базе микроводорослей, недостаточен размер глобального рынка, слишком высока себестоимость, что требует усовершенствования соответствующих биотехнологий, недостаточно гарантирована пищевая или лекарственная безопасность и имеются проблемы с соответствием национальным и международным юридическим нормам, серьезной методической проблемой является масштабирование производства на базе микроводорослей – переход от лабораторных установок к пилотным и далее промышленным.

Актуальность данной диссертации не вызывает сомнений, так как представленная работа направлена на разработку новых методов изучения эукариотических микроводорослей, а также некоторых цианобактерий в биотехнологических целях.

Структура диссертационной работы

Диссертационная работа Кузьмина Д.В. довольно компактный документ, написанный на 306 страниц. Она построена по традиционному принципу и содержит все

необходимые разделы - введение, аналитический обзор, методологию проведения исследований, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, заключение и список используемой литературы из 566 источников, значительная часть которых представлена работами последних лет.

Следует отметить также, что в списке используемой литературы автор приводит собственные работы и труды своего научного коллектива, что свидетельствует о значительном вкладе данной научной группы в разработку вопроса изучения биотехнологического потенциала фотосинтезирующих микроорганизмов. Работа иллюстрирована 58 рисунками, содержит 45 таблиц и 10 приложений.

Во введении четко обоснована актуальность разрабатываемой проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту. Формулируя цели и задачи, автор исходит из текущих пробелов и противоречий в данной области исследования, связанных как с вопросами ограничения использования известных ныне промышленных штаммов-продуцентов, так и с поиском новых природных источников биологически активных соединений.

Обзор литературы содержит разделы, описывающие современную систематику микроводорослей и цианобактерий, описание первичных и вторичных метаболитов, обнаруженных в биомассе фотосинтезирующих микроорганизмов, ключевые факторы, влияющие на продуктивность промышленных штаммов.

Большое внимание уделено в литературном обзоре основным текущим подходам массового скрининга микроорганизмов. Отдельно описаны актуальные примеры платформенных решений применительно к наукам о живом.

Из представленной в литературном обзоре информации четко прорисовываются не только актуальность проблемы для фундаментальной микробиологии фототрофов, но и большой потенциал для практической медицины и сельского хозяйства, связанные с уникальными свойствами синтезируемых данной группой организмов метаболитами. Большую погруженность автора в разрабатываемую научную проблему демонстрируют обширные обобщающие таблицы, консолидирующие всю новейшую информацию о текущей и потенциальной областях применения фотосинтезирующих микроорганизмов, факторах, влияющих на продуктивность микроводорослей, и основных системах промышленного выращивания фототрофов.

Глава «Методология проведения исследований», несмотря на впечатляющий арсенал методов, написана достаточно компактно. Методические материалы приводятся в соответствии с последовательностью описываемых в последующих главах

экспериментальных результатов. Данный способ построения главы позволяет сохранить основную логику исследовательского процесса. Автор сумел выделить ключевые аспекты и модели построения эксперимента без избыточной детализации. При этом материалом для диссертационной работы послужили фотосинтезирующие микроорганизмы различных коллекций (более 200 штаммов, включающих 14 классов), клинические изоляты патогенных бактерий (более 50), а также опухолевые и трансформированные клеточные линии человека (HL-60, HEF и др.).

Экспериментальная работа включала в себя классические биотехнологические подходы, такие как идентификация и химический анализ штаммов, поиск условий культивирования, позволяющий достичь оптимального выхода целевого метаболита. Таким образом, был обнаружен и охарактеризован штамм *Bracteacoccus bullatus* MZ-Ch11, объемная продуктивность липидов для которого составила 80 мг/л/день, что является одним из самых больших значений, зафиксированных в научной литературе.

Автором обнаружен и охарактеризован штамм *Mallomonas furtiva* SBV13, содержащий наибольшее количество фукоксантина при пересчете на сухую биомассы. Проведена глубокая ревизия двух видовых комплексов рода *Mallomonas*.

В работе проведено комплексное и всестороннее исследование природного антибиотика из культуральной жидкости одного из штаммов микроводорослей. Был разработан механизм синтетического получения природного триазеноиндола. Исследована острая токсичность на модельных животных при внутрижелудочном способе введения.

В поздних главах диссертации проведено описание экспериментального тестирования применимости технологии Онкобокс на группе из 50 про- и эукариотических микроводорослей различного происхождения, относящихся к 9 классам. В исследуемых образцах, обработанных экстрактами биомассы фототрофов, определяли уровень экспрессии более 2000 генов. Было показано, что в 92 % образцов ожидаемый цитотоксический эффект совпадал с результатами, полученными в МТТ-тесте. Анализ активации внутриклеточных сигнальных путей позволил предсказать содержание в биомассе цианобактерии рода *Nostoc* цитотоксического соединения. Действующее вещество - макроциклический депсипептид криптофицин-1 - было выделено и охарактеризовано. Полученные данные по цитотоксичности криптофицин-1 хорошо согласуются с представленными в литературе.

Стоит отдельно отметить обобщающие схемы, формулирующие основные идеи данной работы, ориентированные, как следует из названия диссертации, на разработку

платформы для более качественного изучения биотехнологического потенциала микроводорослей и цианобактерий.

В главе «Заключение», проведен анализ полученных экспериментальных результатов и их сопоставления с современными данными. Это раздел диссертационной работы позволяет автору обобщить результаты масштабной, комплексной, мультидисциплинарной и многолетней работы и связать достигнутое понимание применяемых в биотехнологии подходов в единую логику.

Выводы работы сформулированы четко, соответствуют цели и основным задачам работы. Выводы обоснованы широким набором современных и классических методических приемов, позволяющих Кузьмину Д.В. обосновать предлагаемую им методологию во всей полноте. Достоверность научных положений и выводов не вызывает сомнений.

Научная новизна и практическая значимость полученных результатов

Большая часть описываемых в работе результатов получены впервые. Так, впервые выделен и охарактеризован самый эффективный штамм-продуцент омега-3 эйкозапентаеновой жирной кислоты, а также наиболее эффективный штамм-продуцент антиоксиданта фукоксантина, что подтверждается авторством в патентах на эти микроводоросли. Из культуральной жидкости микроводоросли выделен и охарактеризован антибиотик нового класса, активный против грамм-положительных бактерий. Получены убедительные данные, позволяющие рассматривать данный антибиотик как прототип лекарственного препарата против инфекции кожи и мягких тканей, вызванной MRSA. Впервые получены убедительные данные, обосновывающие поиск молекулярных мишеней экстрактов из фотосинтезирующих микроорганизмов с помощью технологии Онкобокс. Предложена оригинальная методология для изучения микроводорослей и цианобактерий, обладающих биотехнологическим потенциалом. Таким образом, возможен переход от получения низко маржинальных продуктов (таких как сорбенты и биотопливо) к соединениям с высокой добавленной стоимостью (таких как медицинские препараты) из биомассы фототрофных микроорганизмов.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертационной работы

В работе, наряду с классическими методами экспериментальной микробиологии, биохимии и физико-химической биологии, использованы современные методы анализа омиксных данных, а также методы промышленной биотехнологии, что подтверждает

обоснованность результатов и формулируемых выводов. Для каждого этапа исследования используются корректные выборки экспериментального материала, методы статистической обработки адекватны задачам и условиям эксперимента.

Полученные данные иллюстрированы таблицами, графиками и гистограммами, позволяющими оценить количественные результаты исследования, а также качество их статистической обработки. Высокий уровень внешней экспертизы данной работы, использованных в ней методов и подходов и достигаемых результатов обеспечен уровнем публикаций автора в высокорейтинговых отраслевых журналах и их апробация на многочисленных научных конференциях. По материалам диссертации опубликованы 9 научных статей и 3 патента. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Вопросы, замечания и комментарии к диссертационной работе

Диссертационная работа Кузьмина Д.В. написана весьма логично и последовательно, структурирована по отдельным обсуждаемым аспектам разрабатываемой проблемы, экспериментальные подходы, ориентированные на решение поставленных задач, организованы грамотно, последовательно, с использованием адекватного набора методических приемов и инструментальных подходов. Этапы и фрагменты исследования логически связаны между собой, результаты их тщательно проанализированы, сопоставлены с мировым опытом и формируют процесс последовательного и углубленного понимания проблематики. Финальная глава обобщает и концептуализирует все применяемые подходы и полученные ранее результаты.

Данное исследование, судя по списку опубликованных работ, имеет почти десятилетнюю историю, что также свидетельствует о глубоком погружении автора в разрабатываемую тематику, а высокая цитируемость отдельных работ в мировой литературе подтверждает авторитет исследователя в научном сообществе. В целом, принципиальных замечаний к работе не имеется.

Заключение

Диссертационная работа Кузьмина Дениса Владимировича «Разработка платформы по получению биологически активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология является самостоятельным, законченным научным исследованием, в котором детально охарактеризованы новые штаммы-продуценты липидов и коммерчески значимых антиоксидантов, из культуральной

жидкости фототрофного микроорганизма выделен антибиотик нового класса, активный против MRSA, предложена и обоснована новая методология изучения фотосинтезирующих микроорганизмов, с использованием технологии анализа активации внутриклеточных молекулярных путей. По актуальности темы, научному и методическому уровню, теоретической и практической значимости результатов диссертация 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 ее автор Кузьмин Денис Владимирович заслуживает присуждения ученой степени доктора наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук по специальности

03.00.02- биофизика,

профессор, декан Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» ,

Ревин Виктор Васильевич

«04» апреля 2025 г.

Контактные данные: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевистская, д. 68, тел.: (8342)324554, E-mail: revinvv2010@yandex.ru

