

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.016.01
(Д 006.027.01), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ» (МИНИСТЕРСТВО
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ)
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА
НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 24.04.2025 г. протокол № 4
О присуждении Кузьмину Денису Владимировичу, гражданину Российской
Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Разработка платформы по получению биологически
активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов» по
специальности 1.5.6 – Биотехнология принята к защите 23.01.2025 г., протокол
№ 3, диссертационным советом 24.1.016.01 (Д 006.027.01) на базе
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
биотехнологии», Министерство науки и высшего образования Российской
Федерации, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42, приказ
Минобрнауки Российской Федерации № 714/нк от 02.11.2012.

Соискатель Кузьмин Денис Владимирович, гражданин Российской
Федерации, 20.05.1985 года рождения, в 2007 г. с отличием окончил
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, по специальности «Биохимия» с присуждением
квалификации «Биохимик». В 2007 г. поступил в аспирантуру Института
биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН и в 2011 г. защитил кандидатскую диссертацию
«Исследование терапевтического эффекта совместной экспрессии генов
цитозиндезаминазы и урацилфосфорибозилтрансферазы в опухолях» с

присвоением ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология.

С 2013 по 2019 гг. работал в Институте биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. С 2019 г. по настоящее время работает в должности директора в Физтех-школе биологической и медицинской физики ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, с 2020 г. по настоящее время также в должности старшего научного сотрудника в лаборатории трансляционной геномной биоинформатики.

Докторская диссертация «Разработка платформы по получению биологически активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов» выполнена в лаборатории трансляционной геномной биоинформатики ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный консультант – доктор биологических наук, профессор РАН Буздин Антон Александрович, заведующий лабораторией трансляционной геномной биоинформатики, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Московская область, г. Долгопрудный.

Официальные оппоненты:

1. Алешкин Андрей Владимирович, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, директор по новым продуктам Общества с ограниченной ответственностью «Орфан-БИО», Краснодарский край, Сириус федеральная территория.

2. Гайсина Лира Альбертовна, доктор биологических наук, 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», г. Уфа.

3. Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор, декан Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Ограёва», г. Саранск.

Выбор официальных оппонентов определялся их большим опытом в области биоразнообразия, таксономии, экологии и биотехнологии водорослей и цианобактерий, клинической микробиологии и биотехнологии, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы. Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию. Высказаны замечания и комментарии. Замечания носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания представлены в стенограмме заседания.

Ведущая организация Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), г. Москва, в своем положительном отзыве, утвержденном директором, доктором биологических наук Федоровым Алексеем Николаевичем и составленном доктором биологических наук Пименовым Николаем Викторовичем, заместителем директора, заведующим лабораторией реликтовых микробных сообществ, и доктором биологических наук, профессором Равиным Николаем Викторовичем, заместителем директора, заведующим отделом молекулярной биологии микроорганизмов, указала, что диссертационная работа Кузьмина Дениса Владимировича по актуальности, научной новизне, методическим подходам и решениям поставленных задач с использованием самых современных достижений омиксных технологий, теоретической и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых

степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, и представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, а ее автор Кузьмин Д.В. заслуживает присуждения ученой степени доктора наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология. Отзыв не содержит критических замечаний, в нем имеется ряд вопросов к диссертанту. Ответ на отзыв присутствует в стенограмме заседания. Выбор ведущей организации обоснован высоким уровнем проводимых в ней исследований в области биоразнообразия, экологии и геохимической деятельности микроорганизмов, геномики и метагеномики микроорганизмов и микробных сообществ, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Соискателем опубликовано 37 научных статей в журналах, индексируемых в международных базах данных и рекомендованных ВАК, из них 9 научных публикаций (3 статьи Q1 WoS, 6 статей Q2) и 3 патента на изобретение относятся к теме диссертации. Наиболее значительными являются следующие публикации:

1. Gusev, E.S., Martynenko, N.A., Podunay, Y.A., Kuzmin, D.V. Morphology, phylogenetic position and distribution of *Mallomonas mangofera* and *Mallomonas foveata* comb. et stat. nov. (Synurales, Chrysophyceae) // Phytotaxa. – 2024. – Vol. 662. – P. 224-2338. (a)

2. Gusev, E.S., Podunay, Y.A., Martynenko, N.A., Tran, H., Kuzmin, D.V. *Mallomonas gemina* comb. et stat. nov. (Synurales, Chrysophyceae) – a new combination based on molecular studies // Phytotaxa.– 2024.– Vol. 665.– P. 221-232. (b)

3. Rozenberg, J.M., Sorokin, B.A., Mukhambetova, A.N., Emelianova, A.A., Belogurova Ovchinnikova, O. Y., Kuzmin, D.V. Recent advances and fundamentals of microalgae cultivation technology // Biotechnology Journal. – 2024. – Vol. 19. – P. e2300725.

4. Namsaraev, Z., Kozlova, A., Tuzov, F., Krylova, A., Izotova, A., Makarov, I., Bezgreshnov, A., Melnikova, A., Trofimova, A., Kuzmin, D.,

Patrushev, M., Toshchakov, S. Biogeographic Analysis Suggests Two Types of Planktonic Prokaryote Communities in the Barents Sea // *Biology*. – 2023. – Vol. 12. – P. 1310.

5. Sorokin, B., Gusev, E., Namsaraev, Z., Emelianova, A., Patova, E., Novakovskaya, I., Vinokurov, V., Kuzmin, D. Effect of microalgae feed supplementation on growth performance and feeding efficiency of tilapia fry // *Journal of Applied Phycology*. – 2024. – Vol. 36. – P. 1767-1780.

6. Maltsev, Y., Gusev, E., Maltseva, I., Kulikovskiy, M., Namsaraev, Z., Petrushkina, M., Filimonova, A., Sorokin, B., Golubeva, A., Butaeva, G., Khrushchev, A., Zotko, N., Kuzmin D. Description of a new species of soil algae, *Parietochloris grandis* sp. nov., and study of its fatty acid profiles under different culturing condition // *Algal Research*. – 2018. – Vol. 33. – P. 358368.

7. Mamaeva, A., Namsaraev, Z., Maltsev, Y., Gusev, E., Kulikovskiy, M., Petrushkina, M., Filimonova, A., Sorokin, B., Zotko, N., Vinokurov, V., Kopitsyn, D., Petrova, D., Novikov, A., Kuzmin, D. Simultaneous increase in cellular content and volumetric concentration of lipids in *Bracteacoccus bullatus* cultivated at reduced nitrogen and phosphorus concentrations // *Journal of Applied Phycology*. – 2018. – Vol. 30. – P. 2237-2246.

8. Marggraf, M.B., Panteleev, P.V., Emelianova, A.A., Sorokin, M.I., Bolosov, I.A., Buzdin, A.A., Kuzmin, D.V., Ovchinnikova, T.V. Cytotoxic Potential of the Novel Horseshoe Crab Peptide Polyphemusin III // *Marine Drugs*. – 2018. – Vol. 16. – P. 466.

9. Petrushkina, M., Gusev, E., Sorokin, B., Zotko, N., Mamaeva, A., Filimonova, A., Kulikovskiy, M., Maltsev, E., Yampolsky, I., Guglya, E., Vinokurov, V., Namsaraev, Z., Kuzmin, D. Fucoxanthin production by heterokont microalgae // *Algal Research*. – 2017. – Vol. 24. – P. 387-393.

Патенты на изобретения:

1. Патент № 2644260. Штамм одноклеточной микроводоросли *Mallomonas kalinae* - продуцент каротиноида фукоксантина / Кузьмин, Д.В., Гусев, Е.С., Петрушкина, М.А.; заявитель, патентообладатель ООО

«СОЛИКСАНТ»; заявл. 25.04.2017; опубл. 08.02.2018.

2. Патент № 266111. Штамм одноклеточной микроводоросли *Eustigmatos magnus* - продуцент эйкозапентаеновой кислоты / Кузьмин, Д.В., Гусев, Е.С., Петрушкина, М.А., Патова, Е.Н., Новаковская, И.В.; заявитель, патентообладатель ООО «СОЛИКСАНТ»; заявл. 13.12.2017; опубл. 11.07.2018.

3. Патент № 2712265. Применение 6-фтор-3-триазеноиндолов для терапии инфекций, вызванных MR SA / Кузьмин, Д.В., Сорокин, Б.А., Филимонова, А.В., Емельянова, А.А., Ершова, О.А.; заявитель, патентообладатель ООО «ВИРИДИАС»; заявл. 22.02.2019; опубл. 28.01.2020.

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени в работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствованных материалов или отдельных результатов без указания источника установлено не было.

На автореферат диссертации поступило 8 отзывов. Все отзывы положительные: Отзывы прислали:

1) Винокуров Владимир Арнольдович, д.х.н., профессор, заведующий кафедрой физической и коллоидной химии, ФГАОУ ВО «Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина». Отзыв положительный, замечания отсутствуют. Указано на то, что «В контексте аквакультуры необходимо было бы провести более детальное исследование влияния экспериментальных кормов на качество продукции и безопасность конечного потребителя. Особое внимание следует уделить анализу накопления потенциально опасных веществ в тканях рыб и оценке долгосрочных последствий использования новых кормовых компонентов». Ответ на пожелание присутствует в стенограмме заседания.

2) Градова Нина Борисовна, д.б.н., профессор, профессор-консультант кафедры Биотехнологии Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева. Отзыв положительный. Есть замечание:

«К сожалению, в автореферате не достаточно информативно описаны используемые методы культивирования водорослей, для оценки активности их роста, характеризующиеся показателем мг/л/день, а также состав питательной среды при культивировании водорослей, позволяющий оценить влияние «десятикратного снижения и полного отсутствия в среде нитратов и фосфатов, на активность синтеза»». Ответ на замечание присутствует в стенограмме заседания.

3) Калмыков Степан Николаевич, д.х.н., профессор, академик РАН, вице-президент РАН, научный руководитель химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Отзыв положительный, без замечаний.

4) Козлов Роман Сергеевич, д.мед.н., профессор, член-корреспондент РАН, ректор ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России. Отзыв положительный, без замечаний.

5) Солдатенко Алексей Васильевич, д.с.-х.н., академик РАН, директор ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства». Отзыв положительный, без замечаний.

6) Фахруллин Равиль Фаридович, д.б.н., главный научный сотрудник НИЛ «Центр аналитической биофотоники и инженерии клеточной поверхности», Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского Федерального университета. Отзыв положительный, без замечаний.

7) Хайтович Филипп Ефимович, к.б.н., профессор, директор Центра нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана Сколковского института науки и технологий. Отзыв положительный. В отзыве имеется рекомендация: «...хотелось бы видеть более подробное описание изменения липидного профиля биомассы в стрессовых условиях культивирования, в частности, не только изменение жирнокислотного профиля, но и изучение вариабельности интактных полярных и неполярных

липидных компонентов биомассы, что также значимо для данного направления работы». Ответ на рекомендацию присутствует в стенограмме заседания.

8) Ямпольский Илья Викторович, д.х.н., зам. директора по научной работе, зав. Отделом Биомолекулярной химии, главный научный сотрудник лаборатории Химии метаболических путей ФГБУН ГНЦ РФ Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. Отзыв положительный, без замечаний.

Соискатель Кузьмин Д.В. ответил на заданные ему в ходе заседания вопросы и привел аргументированные ответы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана биотехнологическая платформа, позволяющая проводить широкомасштабный скрининг экстрактов микроорганизмов; делать предсказательную аналитику содержания биологически активных соединений в экстрактах; идентифицировать активные метаболиты; проводить их биотехнологическое получение в полупромышленном масштабе; проводить химическую модификацию метаболитов с целью улучшения их свойств. Валидирована методика определения биологической активности и поиска молекулярных мишеней экстрактов из фотосинтезирующих микроорганизмов с помощью технологии Онкобокс. На основе метаболита микроводоросли *Dunaliella salina* разработан антибиотик нового класса, который эффективен против метициллин-резистентного золотистого стафилококка. Выделен и охарактеризован новый штамм-продуцент коммерчески значимого антиоксиданта фукоксантина *Mallomonas furtiva* SBV13, который содержит 26,6 мг фукоксантина/г сухой биомассы, что является наибольшей известной концентрацией этого соединения в биомассе. Охарактеризован новый штамм-продуцент омега-3 полиненасыщенной жирной кислоты *Vischeria magna* SBV108, который содержит 46,1 мг ЭПК/г сухой биомассы, что является наибольшей известной концентрацией среди пресноводных микроводорослей. Показано, что

использование биомассы микроводорослей *Vischeria magna* SBV108 и *Mallomonas furtiva* SBV13 в составе стартового корма для мальков красной тиляпии позволило не менее чем на 20% повысить эффективность корма по сравнению с коммерческим аналогом по наиболее значимым параметрам: конверсия корма, ростовые характеристики малька, эффективность использования белка и энергии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые выделен и охарактеризован новый штамм зеленой микроводоросли *Bracteacoccus bullatus* MZ-Ch11, содержание и состав липидов в котором делает его эффективным сырьем для производства биодизельного топлива. Было показано, что при культивировании в условиях азотного и/или фосфорного голодания происходит увеличение содержания липидов с 17% до 59% от сухой биомассы. *B. bullatus* MZ-Ch11 превосходит все ранее описанные маслянистые зеленые водоросли и сопоставим с наиболее эффективным промышленным-продуцентом липидов *Nannochloropsis oceanica* – 64,3% сухой биомассы.

Обнаружен и охарактеризован новый штамм-продуцент коммерчески значимого антиоксиданта фукоксантина *Mallomonas furtiva* SBV13, определены оптимальные условия культивирования, позволяющие достичь содержания фукоксантина 26,6 мг/г сухой биомассы. Охарактеризован новый пресноводный штамм-продуцент омега-3 эйкозапентаеновой кислотой (ЭПК) – *Vischeria magna* SBV108. Показано, что *Vischeria magna* SBV108 является наиболее эффективным продуцентом среди всех почвенных и пресноводных микроводорослей. Содержание ЭПК в биомассе *Vischeria magna* SBV108 составляет 46,1 мг/г сухого веса.

Из культуральной жидкости микроводорослей *Dunaliella salina*, в консорциуме с гетеротрофными бактериями, выделено оригинальное соединение CCN1CCN(CCN1C2=CN=CN=C2C(=O)O)C3=CC=CC=C3 этил-3-[(4-метил-пиперазин-1-ил)диазенил]-1Н-индол-2-карбоксилат (BX-SI001), обладающее антимикробной активностью против ряда грамположительных бактерий, включая метициллин-резистентный

золотистый стафилококк (Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*). Соединение BX-SI001 является новым классом антибиотиков и относится к группе 3-триазеноиндолов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что был разработан регламент полупромышленного культивирования *B. bullatus* MZ-Ch11 в закрытом панельном фотобиореакторе Lumian AGS с суммарным полезным объемом до 260 л. Показано, что при двухнедельном культивировании в условиях десятикратного снижения и полного отсутствия в среде нитратов и фосфатов, соответственно, волюметрический выход липидов достигал 80 мг/л/день.

Разработан регламент полупромышленного культивирования *Mallomonas furtiva* SBV13 в закрытом панельном фотобиореакторе Lumian AGS с суммарным полезным объемом до 260 л. Объемный выход фукоксантина составил 3,7 мг/л/день.

Показано, что в условиях культивирования *Vischeria magna* SBV108 в закрытом панельном фотобиореакторе Lumian AGS с суммарным полезным объемом до 260 л волюметрическая продуктивность составляет 13,4 мг/л/день. Поиск новых пресноводных продуцентов ЭПК имеет большое практическое значение, так как их выращивание часто требует меньших затрат на инфраструктуру, пресноводные системы могут быть проще в эксплуатации и менее подвержены коррозии.

Проведена разработка и тестирование стартерного корма для аквакультуры на основе Supreme-15 (Alltech Coppens) и биомассы микроводорослей-продуцентов эйкозапентаеновой кислоты и фукоксантина. Разработанный прототип корма не менее чем на 20% эффективнее коммерческих аналогов по всем значимым параметрам: конверсия корма, ростовые характеристики малька, эффективность использования белка и др. Микроводоросли, такие как *Vischeria magna* SBV108 и *Mallomonas furtiva* SBV13, могут служить альтернативными источниками белка и полиненасыщенных жирных кислот для аквакультуры.

Получена химическая модификация оригинального соединения - BX-SI043 (этил-6-фтор- 3-[пирролидин-1-ил-азо]-1H-индол-2-карбоксилат), обладающая высокой активностью (диапазон минимальных ингибирующих концентраций 0,125-0,5 мг/л) в отношении 41 штамма MRSA с множественной лекарственной устойчивостью и относительно низкой цитотоксичностью *in vitro* (индекс селективности 76). Соединение BX-SI043 обладает низкой токсичностью при внутрижелудочном (> 600 мг/кг) введении крысам. Согласно ГОСТ 12.1.007- 76 вещество BX-SI043 можно отнести к 3-му классу умеренно опасных веществ и рекомендовать для дальнейшего исследования эффективности на крысах на модели инфекции кожи и мягких тканей, вызванной MRSA.

Впервые для поиска противоопухолевых соединений из биомассы микроводорослей была применена технология Онкобокс. Потенциал предиктивной аналитики данной технологии был валидирован в отношении цитотоксической активности тотальных экстрактов биомассы микроводорослей. Анализ активации внутриклеточных путей, ассоциированных с клеточной гибелью, предсказал наличие мощного цитотоксического соединения в биомассе одного из штаммов. Выделено действующее вещество – макроциклический депсипептид криптофицин-1, синтезируемый цианобактерией рода *Nostoc*. Полученные данные по биологической активности криптофицина-1 хорошо согласуются с описанными ранее в литературе. Технология Онкобокс может быть перспективным подходом для высокопроизводительной предсказательной аналитики содержания биологически активных веществ в микроводорослях. Представленная методика может быть применена не только для поиска противоопухолевых соединений. Дифференциальная активация внутриклеточных сигнальных путей, установленная экспериментальным путем, может быть сопоставлена с аннотированными ранее профилями внутриклеточных путей, полученными в ответ на воздействие на клетку тех или иных препаратов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что представленные результаты отражают разработку единой платформы для поиска штаммов микроводорослей и цианобактерий, обладающих биотехнологическим потенциалом. Описанный подход позволяет пройти полный цикл от выделения новых моноклональных штаммов и проведения их биохимического скрининга до идентификации отдельных биологически активных молекул с последующим синтетическим или биотехнологическим производством в полупромышленном масштабе. Предложенная платформа обладает высокой степенью универсальности как с точки зрения объекта исследования, так и с точки зрения искомого соединения. Внедрение методов машинного обучения и использование омиксных технологий на одном из этапов позволит осуществлять воспроизводительный скрининг штаммов микроводорослей на предмет накопления биологически активных молекул высокой добавленной стоимости.

Личный вклад соискателя состоит в постановке целей и задач на всех этапах исследования, а также в разработке методологии проведения исследований. Соискатель лично проводил ключевые эксперименты, анализировал полученные результаты и сопоставлял их с мировыми данными. Диссертант готовил научные отчеты, ключевые статьи и патентные заявки по результатам основных этапов работы. Особо ценный вклад автора был в обобщение результатов и формулирование основных выводов. Автором непосредственно предложено оригинальное применения технологии Онкобокс в качестве метода анализа больших транскриптомных данных тестовой опухолевой клеточной линии в ответ на воздействие спиртовым экстрактом биомассы фотосинтезирующих микроорганизмов. Автор непосредственно принимал участие в пуско-наладочных работах первого в РФ полупромышленного фотобиореактора AGS 260 л.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что в диссертации:

- соблюдены критерии, установленные Положением о присуждении ученых степеней, утвержденном постановлением Правительства Российской

Федерации от 24.09.2013 г. № 842, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;

- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

На заседании 24 апреля 2025 г. диссертационный совет принял решение присудить Кузьмину Денису Владимировичу ученую степень доктора биологических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 11 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, участвовавших в заседании, из 11 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 10, против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)



П.Н. Харченко

Ученый секретарь

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)

М.В. Дудников

24.04.2025 года