

ОТЗЫВ

официального оппонента

Акбердина Ильи Ринатовича

на диссертацию **Сулейманова Руслана Закиевича**

«Поиск и метаболическая инженерия новых метанотрофных бактерий как продуцентов кормового белка для аквакультуры»»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Актуальность темы. Метан является перспективным источником углерода для биосинтеза биотехнологически полезных соединений с использованием в качестве биокатализаторов аэробных метанотрофных бактерий, а его окисление микробными сообществами метанотрофных организмов, по сути, является единственным биологическим механизмом регуляции и снижения его содержания в атмосфере. Применение современных генно-инженерных подходов, методов геномики и системной биологии значительно расширили масштаб их применения в производстве биотоплива, биоразлагаемых полимеров и других ценных коммерческих продуктов. Стоит отметить, что несмотря на масштабные исследования представителей рода *Methylococcus* в качестве продуцентов кормового белка гаприна, в том числе, в промышленных масштабах, в данной области фундаментальных и прикладных исследований существует огромное количество «белых пятен», включая отсутствие штаммов-продуцентов, как способных к синтезу каротиноидов – важных компонентов кормов для аквакультуры, так и способных расти на морской воде в условиях нехватки или отсутствия пресной воды.

В этой связи диссертационная работа Руслана Закиевича является одним из ярких примеров этого направления микробиологии и системной биотехнологии, в котором отражены результаты масштабного экспериментального исследования по поиску новых природных

быстрорастущих штаммов метанотрофных бактерий, как продуцентов кормового белка, а также оптимизация их метаболизма с помощью подходов генной инженерии.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц и 29 рисунка. Список литературы включает 198 ссылок. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, состоящего из 5 глав, главы материалы и методы, раздела результатов и обсуждения, состоящего из 5 глав, заключения и выводов.

Научная новизна работы

В рамках диссертационной работы Сулеймановым Р.З. не только секвенированы и аннотированы геномы новых изолятов метанотрофных бактерий родов *Methylococcus*, *Methylomonas* и *Methylomarinum*, но и получены их ростовые, продукционные характеристики как с использованием периодических культур, так и непрерывного культивирования в биореакторе, включая штаммы, способные продуцировать обогащенный каротиноидами биопротеин и расти на средах, сходных по составу с морской водой. Более того, для одного из новых метанотрофов, обладающего наибольшим потенциалом для использования в производстве гаприна, впервые проведены работы по метаболической инженерии, направленные на предотвращение стока углерода и энергии штаммом-продуцентом *Methylococcus capsulatus* MIR на синтез гликогена.

Теоретическая и практическая значимость работы. На основании колоссальной экспериментальной работы, проведённой Русланом Закиевичем, получены совершенно новые штаммы-продуценты, сравнимые и превосходящие по ростовым, физиологическим и продукционным характеристикам уже используемые в промышленности продуценты кормового белка из метана.

Продemonстрированное в диссертационной работе Сулейманова Р.З. существенное сокращение логарифмической фазы роста у модифицированного

штамма с делецией генов гликогенсинтаз (*ΔglgA1ΔglgA2*) и при этом сохранение высоких темпов роста, содержания белка в сравнении со штаммом дикого типа подчеркивает практическую значимость применения методов метаболической инженерии для экономически выгодного улучшения биотехнологических процессов с использованием накопительного и отъемно-доливного режимов культивирования метанотрофных бактерий.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. В работе достаточно полно и подробно обоснованы полученные результаты и их достоверность не вызывает сомнения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Научные положения, сформулированные автором настоящей диссертационной работы, обоснованы представленной в рукописи совокупностью полученных экспериментальных данных и анализом геномных последовательностей. Сделанные по результатам работы выводы достоверны и изложены в статьях, опубликованных в международных рецензируемых журналах высокого рейтинга.

Публикации основных результатов диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 9 экспериментальных статей, отражающих основные положения и выводы исследования, в том числе 2 в журналах первого квартиля и 3 в журналах второго квартиля. Все журналы индексируются в международных базах Scopus и WoS и рекомендованы ВАК Минобрнауки России по искомой специальности. Кроме того, опубликовано 3 тезиса докладов на школах-конференциях.

Вопросы по диссертационной работе/ Замечания

1. В главе 4 среди проблем, приводящих к ограниченному арсеналу универсальных инструментов для генетической инженерии метанотрофов, указано наличие S-слоёв клеток, о которых ранее и после в тексте нет

упоминаний. Что это за особенность изучаемых метанотрофных бактерий и как она влияет на оценку экспрессии с использованием репортерных генов?

2. В главе 5 среди проблем технологического порядка не указана одна из существенных в биотехнологии этих микроорганизмов – эффективность массопереноса газообразного субстрата, необходимого для улучшения микробиологической конверсии.

3. В разделе 6.4, посвященном анализу геномов изолятов метанотрофов, не приведено описание настроек программы Unicycler для гибридной сборки коротких и длинных прочтений. Чем было обусловлено использование таких характеристик выравнивания, как 35% идентичности и 50% покрытия аминокислотной последовательности, в качестве отсечки для установления предполагаемой функции рассматриваемой белок-кодирующей последовательности?

4. В разделе 6.5 и по тексту диссертации указано, что типовые штаммы новых видов были депонированы в международных коллекциях микроорганизмов. Однако по тексту указаны лишь идентификаторы базы GenBank. Использовались ли другие базы для депонирования?

5. В разделе «6.7.2. Культивирование галофильных метанотрофов» указано, что начальный расход газовой смеси природного газа и кислорода-воздуха составлял соотношение 1:1. Изменялось ли это соотношение в процессе культивирования далее? Проводились ли измерения скорости продукции органических кислот, CO_2 в процессе культивирования для более точной оценки биоконверсии метана исследуемыми штаммами?

Есть замечания по опечаткам (например, «аробных» в оглавлении подглавы 1.1; «умерено» в подглаве 1.2; «воздуйствием» в описании рибулозомонофосфатного цикла; «трех проворностях» в разделе 6.3), неточностям (дублирования нумерации Рисунка 21).

Отмеченные замечания и вопросы 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

Диссертационная работа Сулейманова Руслана Закиевича является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором на высоком научном уровне в одном из наиболее актуальных направлений микробиологии и современной биотехнологии. Диссертация соответствует пп.1-3, 5-6 и 11 паспорта научной специальности 1.5.11. Микробиология.

В диссертации успешно решены все поставленные задачи по направленному поиску новых природных быстрорастущих штаммов метанотрофных бактерий, которые могли быть использованы в качестве продуцентов кормового белка на основе метана, получены их изоляты, проведена экспериментальная оценка их ростовых и продукционных характеристик.

Научные результаты, полученные Русланом Закиевичем, достоверны и достаточно полно опубликованы в ведущих отечественных и международных изданиях, автореферат адекватно отражает содержание диссертации. Диссертация полностью соответствует требованиям ВАК п. 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», введенного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в ред. 26.01.2024), а ее автор, Р.З.Сулейманов, безусловно, заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник,
направления «Вычислительная биология»,
Научный центр генетики и наук о жизни,



Акбердин Илья Ринатович

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

354340, Российская Федерация, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус»,

Олимпийский пр., д.1

akberdin.ir@talantiuspeh.ru

(специальность 1.5.8. (ранее 03.01.09) Математическая биология, биоинформатика)

16.05.2025

Подпись к.б.н., в.н.с., Акбердина Ильи Ринатовича заверяю:

Руководитель
административно-правового управления
АНОО ВО «Университет «Сириус»



О. С. Больняков