

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора биологических наук Дедыш Светланы Николаевны на диссертационную работу Сачавского Александра Александровича «Управляемое культивирование сообществ метанооксиляющих микроорганизмов», представленную на соискание учёной степени кандидата технических наук по специальности

1.5.6. Биотехнология.

### **Актуальность работы.**

Возможность синтеза белка (биопротеина), полигидроксиалканоатов, полисахаридов, органических кислот, липидов, и ряда других продуктов с добавленной стоимостью из метана на основе использования метаболического потенциала метанотрофных бактерий уже более полувека привлекает внимание микробиологов и биотехнологов. Высокий интерес к подобным биотехнологиям обусловлен уникальной способностью метанотрофных бактерий использовать метан в качестве источника углерода и энергии. Низкая стоимость и большие объёмы добываемого в России природного газа делают эти биотехнологии экономически привлекательными. Теоретические и практические основы производства белково-витаминного концентрата (гаприна) из метана были заложены в работах 70-90-х годов XX века, выполненных на базе ВНИИсинтезбелок. Появление новых методов, таких как редактирование геномов, направленное конструирование производственных ассоциаций, а также мониторинг состава последних с помощью молекулярного анализа, дает импульс для дальнейшего развития этих биотехнологий. Как показывает многолетний опыт, одной из наиболее сложных проблем является обеспечение технологической стабильности и экономической эффективности процесса ферментации на метане, которая определяется метаболической сбалансированностью состава производственной микробной ассоциации. Последняя состоит из метанотрофа-продуцента и гетеротрофных бактерий-спутников, утилизирующих продукты метаболизма и лизиса клеток метанотрофа. Этот же аспект во многом определяет и качество получаемого продукта. Контролировать стабильность процесса в случае произвольно образующейся в процессе незащищенного культивирования ассоциации крайне сложно. Одним из решений этой проблемы является направленное формирование состава метанотрофной ассоциации, а также управление ее культивированием. Этой цели и была посвящена диссертационная работа А.А. Сачавского, что свидетельствует о ее бесспорно высокой актуальности.

### **Теоретическая и практическая значимость результатов работы.**

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых данных о синтрофных взаимодействиях в системе «метанотроф-гетеротроф» и развитии теоретических основ управления культивированием метанотрофных микробных ассоциаций. Выявленные диссертантом закономерности влияния состава питательной среды и газового режима на распределение метаболических потоков в

синтетических метанотрофных ассоциациях вносят вклад в фундаментальные знания о метаболизме метанотрофов различных филогенетических групп.

Практическая значимость выполненной А.А. Сачавским работы очевидна, так как она была направлена на повышение стабильности и эффективности процесса культивирования метанотрофов. Диссертантом были разработаны технологические схемы получения высокобелковой биомассы на основе синтетической ассоциации МС5 и биомассы с повышенным содержанием полигидроксибутирата с использованием синтетической ассоциации МС7. Апробация технологии получения высокобелковой биомассы в нестерильных условиях на техническом метане с использованием ассоциации МС5 показала высокие показатели продуктивности 2,61 кг/(м<sup>3</sup>·ч) при содержании сырого протеина 72-76%. Себестоимость продукта для производства объёмом 10000 тонн в год по биомассе на 10,5% ниже показателей известного промышленного аналога и является конкурентной. Предложенная диссертантом двухстадийная технологическая схема культивирования сообщества МС7 позволяет накапливать полигидроксибутират до 38% от сухой биомассы; для пилотного масштаба (1000 т/год) определены базовые экономические показатели, служащие ориентиром для дальнейшей оптимизации. Особенно важно, что результаты разработок доведены до уровня практического внедрения: разработанный алгоритм защищён как ноу-хау, утверждён лабораторный регламент, что подтверждается наличием акта о внедрении.

#### **Научная новизна исследования и полученных результатов.**

В ходе выполнения работы диссертантом был выделен и охарактеризован новый перспективный продуцент биопротеина вида *Methylococcus capsulatus*, штамм KS-24, обладающий высокой скоростью роста, широким температурным оптимумом и высоким содержанием белка в биомассе. Штамм депонирован в Коллекции UNIQEM в связи с планируемой заявкой на оформление национального патента.

Разработан методически простой, но оригинальный подход к конструированию синтетических метанотрофных ассоциаций, позволяющий формировать трёхкомпонентные сообщества с улучшенными ростовыми характеристиками и устойчивой метаболической связью между компонентами ассоциаций. Идентифицированы ключевые компоненты состава среды и газовой фазы, позволяющие повышать накопление биомассы и сырого протеина, либо полигидроксибутирата в зависимости от целевой задачи. Таким образом, диссертационная работа Сачавского А.А. расширяет представления о возможностях управляемого культивирования синтетических метанотрофных сообществ с сохранением стабильности технологических параметров.

Впервые выявлена способность метанотрофов к внеклеточному фотоиндуцированному синтезу наночастиц серебра (5-20 нм) с антимикробной активностью в отношении грамотрицательных патогенов.

**Степень обоснованности и достоверности основных научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, обеспечивается значительным**

объёмом экспериментального материала. Все ключевые эксперименты выполнены диссертантом в трёх повторностях, что позволяет говорить о статистической надёжности полученных результатов. При обработке данных использованы стандартные методы вариационной статистики и математического планирования эксперимента. Выявленные закономерности воспроизводятся в длительных циклах непрерывного культивирования, что особенно важно для работы по оптимизации технологии культивирования микроорганизмов-продуцентов. Обоснованность выводов работы определяется логикой построения исследования. Автор последовательно проходит этапы от анализа первичных накопительных культур и получения изолятов до конструирования синтетических ассоциаций, оптимизации условий их культивирования и технико-экономической оценки. Такая структура позволяет убедительно аргументировать защищаемые положения. Личный вклад соискателя в получение представленных результатов не вызывает сомнений.

#### **Анализ содержания диссертационной работы.**

Диссертационная работа изложена на 224 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, заключения, выводов, списка литературы из 353 наименований, 43 таблиц, 23 рисунков и 4 приложений. Структура работы отражает последовательность решения поставленных задач.

**Во введении** обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи работы, охарактеризована научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология исследования, а также положения, выносимые на защиту. Объём и содержание введения соответствуют установленным требованиям.

**В первой главе** проведён обзор литературы по распространению в природе и биосферной роли метанотрофных бактерий, особенностям метаболизма и ключевым ферментам этих бактерий, их разнообразию и основным направлениям биотехнологического применения. Отдельное внимание уделено анализу ранее полученных данных о влиянии состава питательных сред и газовой фазы на рост и продуктивность метанотрофов, а также роли гетеротрофных бактерий-спутников в метанотрофных микробных сообществах. По результатам представленного в обзоре материала автор делает вполне обоснованное заключение о том, что, несмотря на наличие у метанотрофов огромного биотехнологического потенциала, наблюдается дефицит системных инженерных решений для его реализации. В целом, обзор написан хорошо, число проанализированных источников свидетельствует о глубокой проработке темы, однако отсутствие источников на русском языке несколько удивляет, т.к. основы биотехнологического применения метанотрофов были заложены в работах советской школы микробиологов и биотехнологов.

**Во второй главе** представлены объекты, материалы и методы исследования. Большим достоинством работы является широкий спектр задействованных в исследовании метанотрофных бактерий. Он включает 4 культуры «модельных» метанотрофов родов *Methylococcus*, *Methylomonas*, *Methylosinus*, *Methylocystis*, использованную ранее в производстве ассоциацию *Methylococcus capsulatus* ВСБ-

874. а также спектр накопительных метаноокисляющих культур, 5 новых полученных в работе изолятов метанотрофов (штамм *Methylococcus capsulatus* KS-24) и более двух десятков изолятов бактерий-гетеротрофов. Таким образом, общая совокупность объектов исследования выглядит весьма значительной и непростой в поддержании. Спектр использованных в работе методов не менее обширен и разнообразен. Он включает получение накопительных культур, выделение и идентификацию чистых культур, определение ростовых характеристик, конструирование бинарных и тройных синтетических сообществ, оптимизацию составов сред с применением однофакторных экспериментов и центрального композиционного плана, а также эксперименты по периодическому и непрерывному культивированию в стерильных и нестерильных режимах. Выбор методов адекватен поставленным в работе задачам.

**В третьей главе**, являющейся центральной, изложены основные экспериментальные результаты. Представлены данные о получении пяти быстрорастущих накопительных культур, выделении и идентификации изолятов метанотрофов и бактерий-спутников. Описан разработанный диссертантом метод конструирования синтетических сообществ на основе количественной оценки парных взаимодействий. Показано, что созданные трёхкомпонентные сообщества превосходят по ростовым характеристикам чистые и накопительные культуры. Приведены результаты оптимизации составов сред и газовой фазы, позволившие существенно повысить накопление биомассы и содержание целевых соединений (белка до 76,5%, полигидроксibuтирата до 39,7%). Представлены данные непрерывного культивирования в стерильных и нестерильных условиях на чистом и техническом метане, а также результаты молекулярного анализа созданных ассоциаций, подтверждающие высокую стабильность их состава и продуктивность.

**В четвёртой главе** представлены принципиальные технологические схемы, разработанные на основе полученных в работе экспериментальных данных. Для получения высокобелковой биомассы предложена одностадийная непрерывная схема культивирования в нестерильных условиях на техническом метане. Для биомассы с высоким содержанием полигидроксibuтирата разработана двухстадийная схема, разделяющая фазы накопления биомассы и синтеза биополимера. Представленные на рисунках 22 и 23 блок-схемы культивирования сообществ M5 и M7 выглядят логично. Большой интерес представляет проведённый диссертантом предварительный технико-экономический расчёт, включающий оценку эффективного фонда рабочего времени, подбор оборудования, оценку капитальных и эксплуатационных затрат, себестоимости продукции.

**В заключении** диссертантом подведены итоги работы и намечены перспективы развития темы, а также сформулированы выводы, которые соответствуют поставленным задачам.

**Приложения** содержат документы, подтверждающие депонирование штамма, внедрение результатов и правовую охрану РИД.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

**Публикации автора** (16 работ, из них 3 в изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в международных базах) в достаточной мере освещают основные результаты исследования.

#### **Замечания и вопросы по диссертационной работе.**

Ознакомление с диссертацией оставляет очень благоприятное впечатление большим объемом экспериментальной работы со сложными в культивировании микроорганизмами, разнообразием задействованных методов и подходов, а также высокой результативностью и несомненной практической значимостью. К ее автору, тем не менее, есть несколько вопросов:

- 1) Какие из основных результатов работы, по мнению диссертанта, могут потребовать наиболее значительной корректировки при масштабировании процесса культивирования?
- 2) При подборе концентраций меди в среде, обеспечивающих высокую продуктивность роста метанотрофов, необходимо учитывать риск избыточного накопления этого тяжелого элемента в биомассе. Проводили ли анализ содержания Cu в полученной биомассе?
- 3) На стр. 83 в числе параметров стабильного состояния процесса упоминается «наличие в суспензии контаминирующей микрофлоры в количестве не более 50% от общего состава микробной популяции». Не завышен ли этот показатель?
- 4) Заключение о стабильности состава синтетических ассоциаций желателно выносить на основании полученных в динамике данных молекулярного анализа, тогда как в диссертации приведены только финальные данные профилирования и только для ферментаций с высокой продуктивностью.

Мелкие недочеты:

- 1) Для обозначения различных родов метанотрофных бактерий автор использует одно и то же сокращение - М.- что затрудняет восприятие информации.
- 2) Термин «интроплазматическая мембрана» некорректен. Правильный термин – внутрицитоплазматическая мембрана или аббревиатура ВЦМ.
- 3) Адресовать филум Verrucosimicrobiota как «некультивируемый» уже нельзя. В нем несколько десятков охарактеризованных таксонов, хотя метанотрофов среди них пока единицы.
- 4) В тексте диссертации встречаются невыправленные опiski и опечатки.

Эти замечания не умаляют научной и практической ценности выполненной соискателем работы, которая заслуживает высокой оценки. Содержание автореферата соответствует основным положениям и выводам диссертационной работы. Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.6.- «Биотехнология».


#### **Заключение о соответствии диссертации требованиям «Положения о присуждении учёных степеней».**

Диссертационная работа Сачавского Александра Александровича является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований фундаментального и прикладного характера

содержатся научно обоснованные технические и технологические решения задачи разработки методов конструирования и оптимизации культивирования синтетических метанотрофных сообществ, а также их применения в процессах получения биомассы с высоким содержанием таких ценных соединений, как белок и полигидроксibuтират, имеющей значение в области биотехнологии биоконверсии метана. Результаты, представленные в диссертации, представляют интерес для совершенствования промышленных биотехнологических процессов получения биомассы метанотрофных микроорганизмов на действующих производствах.

По своему содержанию работа полностью соответствует требованиям и критериям, предъявляемым ВАК к работам на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (пункты 2 и 3). Диссертация отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Сачавский Александр Александрович, заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

**Официальный оппонент:** доктор биологических наук (03.00.07 – Микробиология), Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной экологии и филогеномики бактерий Института микробиологии им. С.Н. Виноградского.



Дедыш Светлана Николаевна 29.05.2026 г.

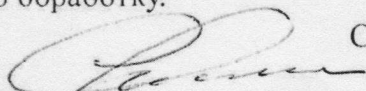
Адрес места работы: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.

Телефон: +7(499)135-03-89, Электронная почта: [dedysh@mail.ru](mailto:dedysh@mail.ru).

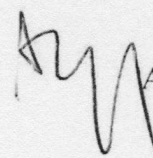
Я, Дедыш Светлана Николаевна, даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» и в Федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело соискателя и дальнейшую обработку.

29.05.2026 г.

С.Н. Дедыш



Подпись д.б.н. Дедыш С.Н. за  
Ученый секретарь ФИЦ Био



А.Ф. Орловский

Вход. № 05-9018  
«09» 06 2026 г.  
подпись 