

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Радченко Марини Михайлівни на здобуття наукового ступеня доктора філософії «Отримання штаму-продуценту *Bacillus subtilis* з підвищеним накопиченням рибофлавіну» за спеціальністю 091 «Біологія»

Дисертація Радченко М.М. «Отримання штаму-продуценту *Bacillus subtilis* з підвищеним накопиченням рибофлавіну» присвячена виділенню та селекціонуванню нових штамів-продуцентів рибофлавіну роду *Bacillus*, із застосуванням хімічного і УФ-мутагенезу. У роботі виділено 10 мікроорганізмів-продуцентів рибофлавіну із 9-ти зразків бульб картоплі сорту Адретта, зібраних на полях в передмісті міста Києва. Отримано чисту культуру продуценту з найбільшим накопиченням рибофлавіну, що за культурально-морфологічними ознаками відповідно до «Визначника бактерій Бердже» віднесено до *Bacillus subtilis*. Приналежність до цього виду підтверджена філогенетичним аналізом послідовності гену 16S рРНК. Визначено оптимальні параметри культивування для максимального накопичення рибофлавіну отриманим штамом: кількість посівного матеріалу та термін його культивування, джерело вуглецю та його концентрацію, температуру, рН і термін культивування продуценту.

Проведено інтенсифікацію накопичення рибофлавіну за допомогою УФ мутагенезу та отримано стійкий штам роду *Bacillus*, який продукував на 45 % більше рибофлавіну в порівнянні з вихідним штамом. Для збільшення накопичення рибофлавіну було проведено обробку отриманого після УФ мутагенезу штаму мутагеном N-метил-N-нітро-N-нітрозогуанідином, що дозволило підвищити синтез рибофлавіну ще на 9 %, до 14,8 г/дм³. Показано, що культивування у біореакторі з періодичним підживленням збільшувало на 65 % утворення рибофлавіну порівняно з накопиченням рибофлавіну в колбах. Отримані штами *B. subtilis* пропонуються для використання в промисловій технології рибофлавіну і створення на їх основі рекомбінантного штаму для надсинтезу рибофлавіну.

Дисертація складається з анотації, вступу, восьми розділів, висновків, списку використаних джерел і додатків. Робота викладена на 151 сторінках тексту, містить 39 рисунки, 13 таблиць, чотири додатки. Список використаних джерел містить 157 найменувань і свідчить про те, що було проаналізовано сучасні результати наукових досліджень.

1. Дисертація виконана на актуальну тему. *Bacillus subtilis* (Ehrenberg 1835) Cohn 1872 – це модельний грам-позитивний мікроорганізм для вивчення багатьох клітинних процесів, а також зручний продуцент у

біотехнології для ряду цільових метаболітів, зокрема, вітаміну В₂. Рибофлавін є необхідним для забезпечення нормального обміну речовин, розвитку, живлення та здоров'я організму людини.

Важливим є сучасне застосування рибофлавіну в медицині, що може бути використано для лікування в умовах війни, зокрема, для лікування поранень розробленими у Тернопільському національному медичному університеті імені І.Я. Горбачевського МОЗ України аерогелевими пов'язками на основі діоксиду кремнію з можливістю введення вітаміну В₂. Крім того, комбінований вплив рибофлавіну та УФ-опромінення використовують для знезараження плазми донорської крові, в тому числі що призначається важкохворим COVID-19 пацієнтам. Налагоджений біотехнологічний процес виробництва рибофлавіну важливий також для післявоєнної відбудови економіки України, адже сприяє покращенню здоров'я та відродженню популяції населення, підвищує додану вартість продукції, а також відповідає наступним чинним Цілям сталого розвитку, які наша країна затвердила разом з іншими членами ООН: № 3 (міцне здоров'я і благополуччя), № 8 (гідна праця та економічне зростання), № 9 (промисловість, інновації та інфраструктура).

2. Новизна представлених експериментальних результатів проведених досліджень та їх практичне значення.

Виділено нові штами-продуценти рибофлавіну *B. subtilis* IFBG МК-2 (із бульби картоплі), *B. subtilis* IFBG МК-1А (за допомогою УФ мутагенезу) та *B. subtilis* IFBG NTG2 (за допомогою УФ і хімічного мутагенезу). Отримані штами внесено до «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для сільськогосподарської та промислової біотехнології» Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України». Культуру *B. subtilis* ІМВ В-7797 (IFBG МК-2) депоновано в «Національній Депозитарії мікроорганізмів» Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Визначено нуклеотидну послідовність гена 16S рРНК виділеного штаму *B. subtilis* ІМВ В-7797 та проведено його філогенетичний аналіз. Сиквеновану послідовність гена 16S рРНК штаму *B. subtilis* ІМВ В-7797 було зареєстровано в базі даних GenBank з реєстраційними номерами МК880455 і МК880456.

3. Всі наукові результати дисертації опубліковані, апробація результатів є достатньою, отже вимоги пунктів 8 і 9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової Вченої рада закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою КМУ від 12.01.2022 р. № 44 виконані.

У відкритому друці за темою дисертації опубліковано 13 робіт, в тому числі 4 статті у наукових фахових виданнях, включених на дату опублікування до

переліку наукових фахових видань України; 1 стаття у періодичному науковому виданні, проіндексованому у базі даних Scopus, 8 тез доповідей наукових конференцій.

В опублікованих працях здобувача повністю відображені сутність та зміст отриманих результатів дослідження та їхня наукова новизна. Результати дослідження доповідались і отримали позитивну оцінку на міжнародних науково-практичних конференціях. З огляду на це апробація результатів дисертаційної роботи є достатньою.

Усі результати, які винесено автором на захист, отримані самостійно і містяться в опублікованих роботах. У роботах, опублікованих у співавторстві, використані тільки ті ідеї, положення та розрахунки, які є результатом особистих наукових пошуків. Особистий внесок дисертантки у колективні наукові роботи конкретизовано у списку праць здобувачки.

4. Оцінка рівня виконання поставленого наукового завдання та оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.

Структура роботи в цілому відповідає загальній схемі побудови дисертацій та вимогам МОН України до дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

5. Відсутність порушення академічної доброчесності.

Рукопис дисертації було перевірено online-сервісом пошуку плагіату Unichek. Підстав для сумнівів у науковій доброчесності здобувачки не виявлено. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

6. Питання до здобувача та зауваження.

У ході рецензування роботи виникли питання та зауваження щодо оформлення рукопису та його змісту.

1. У розділі «Узагальнення отриманих результатів» зазначено, що отримані дані з оптимізації джерела та концентрації вуглецю порівняли з літературними даними, проте у розділі «Оптимізація умов культивування штаму-продуценту» таких порівнянь не виявлено. Які джерела вуглецю та їх концентрації були оптимальними для інших штамів *Bacillus subtilis* при культивуванні з метою отримання рибофлавіну за даними літератури?

2. Було б доречно провести статистичне порівняння достовірності відмінностей для таблиці 3.2 і рисунка 7.4, що може впливати на трактування результатів. Чи є достовірними відмінності продукування рибофлавіну на 56-ту і 66-ту добу культивування на рисунку 7.4?

3. У роботі зустрічаються описки, в тому числі у латинських назвах, і неправильні посилання на рисунки.

Висловлені зауваження не стосуються концепції дисертаційного дослідження і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

7. Загальний висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Оцінюючи роботу в цілому, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Радченко Марини Михайлівни «Отримання штаму-продуценту *Bacillus subtilis* з підвищеним накопиченням рибофлавіну» є актуальним, завершеним науковим дослідженням. За актуальністю, ступенем новизни, обґрунтованістю, науковою та практичною цінністю здобутих результатів дисертація Радченко Марини Михайлівни відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» №44 від 12 січня 2022 року, а її авторка Радченко Марина Михайлівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент

науковий співробітник
лабораторії біотехнології біопалив
та інновацій в зеленій енергетиці
ДУ «ІХБГ НАН України»,
к.б.н.

Тетяна ІВАНОВА