

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», академік НАН України, д.б.н., проф.

Ярослав БЛЮМ

2024 р.

## ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації кандидата біологічних наук, старшого дослідника, асистента кафедри біохімії Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка Міністерства освіти і науки України **Ракші Наталії Григорівни** на тему «**Розробка біотехнологічних підходів створення білкових інноваційних продуктів з гідробіонтів Антарктичного регіону**», що подається на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Призначені рішенням вченої ради Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (протокол № 11 від 17 жовтня 2023 року) рецензенти, а саме:

**Шульга Сергій Михайлович** – заступник директора з наукової роботи, доктор біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія;

**Блюм Ярослав Борисович** – директор, завідувач відділу геноміки та молекулярної біотехнології, академік НАН України, доктор біологічних наук, професор за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія;

**Пірко Ярослав Васильович** – завідувач відділу популяційної генетики, доктор біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика,

розглянувши докторську дисертацію **Ракші Наталії Григорівни** «Розробка біотехнологічних підходів створення білкових інноваційних продуктів з гідробіонтів Антарктичного регіону» (тема дисертації затверджена вченою радою Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, протокол № 14 від 15 червня 2023 р.), наукові публікації, в яких висвітлені основні наукові

результати, а також результати розширеного фахового семінару відділу геноміки та молекулярної біотехнології ДУ «ІХБГ НАН України» (протокол № 17 від 28.11.2023 року) **ухвалили:**

1. Дисертаційна робота Ракші Наталії Григорівни «Розробка біотехнологічних підходів створення білкових інноваційних продуктів з гідробіонтів Антарктичного регіону», представлена на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, є кваліфікаційною науковою працею на правах рукопису, яка за обсягом, актуальністю, рівнем наукової новизни та практичної цінності **відповідає** вимогам пунктів 7-9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 року.

#### **Актуальність обраної теми дослідження.**

Актуальність представленої роботи визначається: зростанням запитів споживачів на продукцію на основі природних білкових молекул; необхідністю розширення сировинної бази задля забезпечення потреб промисловості; необхідністю впровадження технологій комплексної переробки сировини та створення продукції з доданою вартістю.

Один з біотехнологічних напрямів передбачає активне використання ферментів, впровадження яких дозволяє оптимізувати існуючі виробничі алгоритми з урахуванням особливостей сировини та споживчих запитів, сприяє покращенню параметрів технологічних процесів та зниженню навантаження на довкілля через заміну хімічних підходів на більш екологічні ферментативні, дозволяє розвивати нові наукоємні напрямки.

Серед проблем, пов'язаних з використанням сировини та інтенсифікацією виробництва, – відбракування у процесі переробки частки сировини як побічні відходи, що не дозволяє досягти повного економічного ефекту від переробки, збільшує навантаження на довкілля. Впровадження підходів, що ґрунтуються на засадах глибинної переробки сировини дозволить значно збільшити обсяг та асортимент кінцевої продукції. Сучасні біотехнологічні тенденції свідчать про

перспективу використання альтернативних джерел сировини для отримання комерційно привабливих молекул та про перспективність комплексної переробки сировини задля досягнення максимального економічного ефекту від виробництва біотехнологічних продуктів.

Доцільність використання морських гідробіонтів як сировинного ресурсу є широка розповсюдженість та висока відтворюваність даних організмів, що набуває особливої актуальності на фоні невпинно зростаючого дефіциту сировини та здорожчання засобів на основі біологічно активних речовин рослинного походження та/чи сполук, одержаних з тканин теплокровних тварин. Перевагою використання морських гідробіонтів як сировинного ресурсу є відсутність споживчих ризиків, пов'язаних з потенційно існуючою загрозою зараження коров'ячим сказом, ящуром чи пташиним грипом та існування генетичних модифікацій. Така сировина має нижчі ризики контамінації пріонами, інфекційними агентами, проонкогенами.

Одержання біологічно активних речовин природного походження та всебічне дослідження їх ефектів належить до актуальних напрямків сучасних досліджень та визначає стабільно високий інтерес науковців до даної проблематики. Саме тому розробка науково-обґрунтованого методологічного інструментарію комплексної та раціональної переробки морських гідробіонтів має стати одним з пріоритетних напрямків розвитку науково-технологічного прогресу.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційну роботу виконано на кафедрі біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка у рамках науково-дослідних тем «Механізми реалізації адаптаційно компенсаторних реакцій організму за умови розвитку різних патологій» (№ д/р 0111U004648, 2011-2015 рр.); «Механізми регуляції метаболічних процесів в організмі за умов розвитку патологічних станів» (№ д/р 0116U002527, 2016-2018 рр.) та науково-дослідних робіт за державною цільовою науково-технічною програмою проведення досліджень в Антарктиці на 2011-2023 роки:

«Отримання та характеристика цільових біотехнологічних продуктів з тканин антарктичної медузи» (№ д/р 0121U112501, 2021 р.); «Отримання та характеристика пептидних молекул, що виявляють цільові активності, з гідробіонтів Антарктичного регіону» (№д/р 0120U104207, 2020 р.); «Отримання та молекулярно-біохімічна характеристика фібрино(гено)літичних ферментів з морських гідробіонтів Антарктичного регіону» (№ д/р 0119U002995, 2019 р.); «Пептиди, отримані з антарктичного морського гребінця *Adamussium colbecki*, як потенційний засіб корекції метаболічних порушень організму, спричиненої розвитком ожиріння» (№ д/р 0117U004992, 2017 р.); «Пептиди колагену, отримані з луски антарктичних риб, як основа для створення засобів профілактично лікувальної дії на розвиток ожиріння та вивчення механізмів їх дії» (№ д/р 0116U007769, 2016 р.); «Скринінг потенційних об'єктів отримання препаратів білків та пептидів для фармакологічного застосування» (№ Н/1-2014, 2014 р.); «Розробка методологічних підходів та створення колекції препаратів білків та пептидів з антарктичних організмів» (№д/р 0113U005690, 2013 р.); «Розробка технологій отримання препаратів білків та пептидів з антарктичних організмів» (№ д/р 0112U008038, 2012 р.).

**Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, які сформульовані в дисертації.** В дисертаційній роботі використані сучасні методи дослідження, зокрема: хроматографічні методи – афінна, іонообмінна хроматографія, хроматографії, що поділяє за розмірами (очищення ферментів); електрофоретичні методи – електрофорез в поліакриламідному гелі за денатуруючих умов, ензим-електрофорез, 2Д-електрофорез (аналіз білково-пептидного складу, оцінка гомогенності одержаних зразків, виявлення активних протеаз, визначення ізоелектричних точок); спектрофотометричні методи (визначення активності ферментів, вмісту окремих сполук, оцінка антиоксидантної, гемолітичної активностей); імуноферментний метод (визначення вмісту цитокінів та інсуліну); гістохімічні методи (виявлення гранул тучних клітин та волокон колагену); агрегатометрія та протокова цитометрія (оцінка функціонування тромбоцитів), а також хронометричні



тести. Отримані дані репрезентативні і пройшли коректну статистичну обробку.

Комплексне використання різноманіття сучасних методів і підходів, відтворюваність протоколів і експериментального матеріалу дозволяє підтвердити обґрунтованість і достовірність отриманих результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено оцінку потенціалу окремих видів гідробіонтів Антарктичного регіону для отримання біотехнологічних продуктів, сформульовано концептуальні положення розроблення технологій використання біологічних ресурсів Антарктичного регіону на прикладі малоцінних видів гідробіонтів та потенційно інвазійних видів як альтернативного джерела молекул білкової природи для отримання на їх основі інноваційних біотехнологічних продуктів.

Розроблено методологічні засади для створення цільових біотехнологічних продуктів на основі молекул білкової природи з гідробіонтів Антарктичного регіону від очищення цільових молекул і до тестування їх потенційних активностей на моделях *in vivo* та *ex vivo*.

Оптимізовано основні етапи одержання фібрино(гено)літичних ферментів з тканини гідробіонтів з урахуванням особливостей сировини; на прикладі одержання пептидів колагену запропоновано схему комплексної переробки сировини із застосуванням принципів економіки замкнутого циклу.

Результати дисертаційної роботи сприяють систематизації знань щодо фізико-хімічних та каталітичних властивостей ферментів з організмів, адаптованих до низьких температур середовища існування; дані щодо дослідження кінетичних характеристик трипсиноподібного ферменту з антарктичного морського гребінця вносять певний вклад у розуміння механізмів біохімічної адаптації; отримані у роботі результати можуть бути використані у білковій інженерії під час конструювання рекомбінантних аналогів, що здатні зберігати високу ферментативну активність за понижених температур.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дисертаційної роботи можуть знайти практичне впровадження під час розробки технологій

комплексного та раціонального використання біологічних ресурсів Антарктичного регіону і експериментально обґрунтовують можливість використання гідробіонтів цього регіону як сировини для одержання протеолітичних ферментів, фракцій біологічно активних пептидів та колагену.

Отримані фібрино(гено)літичні ферменти можуть бути використані при створенні засобів діагностики та профілактики порушень у системі гемостазу чи у фундаментальній біології для дослідження білок-білкових взаємодій, вивчення закономірностей процесу полімеризації фібрину, досліджень взаємодій з іншими білками та як інструмент для спрямованого протеолізу фібриногену. Фібрино(гено)літичні ферменти з гідробіонтів Антарктичного регіону та серинові протеїнази можуть знайти застосування у медицині як складові ранозагоювальних засобів для лікування гнійно-некротичних уражень шкіри та м'яких тканин. Крім того, виражена колагенолітична активність серинових протеїназ з медузи, збереження активності у широкому діапазоні значень рН та за вищих температур відкриває перспективи їх потенційного використання за умов, що характеризуються нестійкістю чи зміною рН чи потребують підвищених температур, наприклад, обґрунтовує можливість використання серинових протеїназ з медузи Антарктичного регіону при переробці колагенвмісних відходів та/чи сировини.

Виявлена на моделі ожиріння, індукованого споживанням висококалорійної дієти, здатність пептидів, отриманих з колагену луски риб Антарктичного регіону, та пептидів, отриманих шляхом гідролізу біомаси гідробіонтів, впливати на розвиток ожиріння, відкриває перспективи їх використання як нових лікарських засобів, складової біологічно активних добавок чи функціональних продуктів харчування, які спрямовані на профілактику розвитку надмірної ваги та корекцію метаболічних розладів, що асоційовані з оксидативним стресом та порушенням енергетичного гомеостазу.

Крім того, результати щодо дослідження біологічних ефектів білкових молекул з гідробіонтів потенційно можуть становити інтерес для державних та комерційних установ, діяльність яких пов'язана з розробкою та просуванням на

ринок інноваційних лікарських засобів.

Отримані в рамках роботи результати можуть бути використані як теоретичне підґрунтя під час розробки технологічних стратегій створення фармакологічних засобів, дія яких є комплексною та спрямованою на покращення загального метаболічного статусу організму, а також засобів направлених на корекцію чи попередження розвитку розладів у системі гемостазу. Результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес під час викладання дисциплін «Лабораторний практикум з біохімії», «Методи практичної біохімії», «Молекулярні основи дії ферментів», «Методи очистки білків та пептидів», «Пілотні проекти в біотехнології», «Імунобіотехнології».

**Відомості про проведення біоетичної експертизи дисертаційних досліджень.** Біоетична експертиза матеріалів дисертаційної роботи Ракші Наталії Григорівни «Розробка біотехнологічних підходів створення білкових інноваційних продуктів з гідробіонтів Антарктичного регіону», проведена комісією з питань біоетики Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини Київського національного університету імені Тараса Шевченка Міністерства освіти і науки України (протокол № 5 від 05.09.2023 р., додається). Зазначена дисертаційна робота виконана без порушень міжнародних норм біоетики.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, виконаним автором у рамках зазначених вище тем науково-дослідних робіт. Автором самостійно сформульовано концепцію роботи та розроблено структуру, обґрунтовано мету та задачі роботи, розроблено методологію експериментальних досліджень, проведено пошук і аналіз літературних джерел, сформульовано основні положення та висновки. Експериментальна частина дослідження була виконана автором особисто або за безпосередньої участі. Гістохімічний аналіз зразків жирової тканини було проведено доктором філософії (PhD) в галузі 091-біологія, асистентом кафедри цитології, гістології та репродуктивної медицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Калмиковою О.О., моделювання вирізаних площинних ран у щурів

було здійснено к.б.н., завідуючою навчальної міжкафедральної лабораторії біомедицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Степановою Л.І. План дисертаційної роботи, створення концепції дослідження та деякі методологічні аспекти роботи обговорювалися із доктором біологічних наук, професором Савчуком О.М. та доктором біологічних наук, професором Остапченко Л.І. Матеріали статей обговорювали, а висновки узгоджували із усіма співавторами публікацій.

З наукових праць, опублікованих у співавторстві, в дисертаційній роботі використано тільки ті ідеї та здобутки, що являються особистим внеском здобувача. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертаційної роботи було апробовано на фахових конференціях: XI International Antarctic Conference Dedicated to the 160th Anniversary of the Birth of Volodymyr Vernadsky – the first President of the Ukrainian Academy of Sciences, Founder of the Study of Noosphere (Kyiv, 2023); X International Antarctic Conference Dedicated to the 25th Anniversary of Raising of the National flag of Ukraine at the Ukrainian Antarctic Akademik Vernadsky Station (Київ, 2021); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю Київського національного університету технологій та дизайну та кафедри біотехнології, шкіри та хутра (Київ, 2020); The ISTH 2020 Virtual Congress; IX Міжнародній Антарктичній Конференції, присвяченій 60-річчю підписання Договору про Антарктику (Київ, 2019); VIII Міжнародній Антарктичній конференції присвяченій 25-річчю приєднання України до Договору про Антарктику (Київ, 2017); XIII International Scientific Conference of Young Scientists Shevchenkivska Vesna: Life Sciences (Kyiv, 2015).

2. Дисертаційна робота Ракші Н.Г. містить особисто отримані здобувачем науково обґрунтовані результати, а кількість та якість наукових праць опублікованих за її матеріалами відповідають вимогам наказу МОН України № 1220 від 23 вересня 2019 року «Про опублікування результатів дисертацій на



здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук».

За результатами дисертаційної роботи опубліковано 35 наукових праць: 11 статей у фахових виданнях, затверджених МОН України; 3 статті у міжнародних фахових виданнях; 9 статей у виданнях, що індексуються міжнародними наукометричними базами даних Scopus (включаючи Q1-Q3) та Web of Science; 2 розділи у монографіях, виданих закордонними видавництвами; 2 патенти на корисну модель; 8 матеріалів і тез доповідей на наукових конференціях та з'їздах.

#### **Повнота висвітлення матеріалів дисертації в публікаціях.**

Опубліковані роботи адекватно відображають основний зміст дисертації. Наукові праці, що розкривають основні наукові результати дисертації:

1. Kalmukova O, **Raksha N**, Vovk N, Halenova T, Dzerzhynsky M, Mitrecic D, Savchuk O, Ostapchenko L. Low Molecular Mass Fragments of Collagen Improve Parameters Related to Mass and Inflammation of the Adipose Tissue in the Obese Rat. *Food Technology and Biotechnology*. 2023;61(1):51-63. DOI:10.17113/ftb.61.01.23.7926 (Scopus, **Q2**), *(здобувачем отримано низькомолекулярні фрагменти колагену з луски риб Антарктичного регіону та оцінено вплив їх вплив на індекс маси тіла тварин)*

2. **Raksha N**, Halenova T, Vovk T, Kostyuk O, Synelnyk T, Andriichuk T, Maievskaya T, Savchuk O, Ostapchenko L. Anti-obesity effect of collagen peptides obtained from *Diplulmaris antarctica*, a jellyfish of the Antarctic region. *Croatian Medical Journal*. 2023;64(1):21-28. DOI:10.3325/cmj.2023.64.21 (Scopus, **Q3**) *(здобувачем отримано колагенові пептиди з медузи, оцінено їх вплив на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та на показники, що характерні для стану інсулінорезистентності, інтерпретовано результати та підготовлено публікацію до друку)*

3. **Raksha N**, Halenova T, Vovk T, Beregova T, Maievskaya T, Tomchuk V, Savchuk O, Ostapchenko L. Isolation and partial characterization of serine proteases from jellyfish of the Antarctic region. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 2023;11(2):144-150. DOI:10.7324/JABB.2023.110214 (Scopus, **Q3**) *(здобувачем розроблено методологію отримання фракції серинових протеїназ, досліджено їх температурний та рН оптимум, оцінено активність щодо різних білкових субстратів)*

4. **Raksha N**, Kalmukova O, Vovk T, Halenova T, Dzerzhynsky M, Savchuk O, Ostapchenko L. Effects of peptides derived from the Antarctic scallop *Adamussium colbecki* on obese rats' adipose tissue histophysiology. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*. 2021;13(4):24-34. DOI:10.34302/crpjfst/2021.13.4.3 (Scopus) (здобувачем отримано фракцію гідролітичних пептидів, оцінено вплив пептидів на показники, що асоційовані з розвитком ожиріння)

5. **Raksha N**, Halenova T, Vovk T, Savchuk O, Tomchuk V, Maievska T, Ostapchenko L. Biologically active peptides derived from the Antarctic hydrobionts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2021;11(08):126-133. DOI:10.7324/JAPS.2021.110817 (Scopus, Q2) (здобувачем отримано фракцію ендогенних пептидів з гідробіонтів *Nacella concinna*, *Euphausia superba*, *Diplulmaris antarctica*, оцінено їх антиоксидантний потенціал, досліджено вплив на функціональну активність тромбіну та здатність фібриногену до полімеризації, інтерпретовано результати, підготовлено публікацію до друку)

6. **Ракша Н**, Маєвська Т, Савчук О. Одержання пептидів з гідробіонтів Антарктичного регіону. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія Біологія*. 2021;1(84):38-43. (здобувачем оптимізовано метод отримання ендогенних пептидів з молекулярною масою нижче 5 кДа, підготовлено публікацію до друку)

7. **Raksha N**, Halenova T, Kravchenko O, Vovk T, Savchuk O, Ostapchenko L. Purification and biochemical characterization of Trypsin-like enzyme from Antarctic Hydrobiont *Adamussium colbecki*. *Research Journal of Biotechnology*. 2020;15(1):1-7. (Scopus) (здобувачем оптимізовано метод очищення трипсиноподібних ферментів з екстракту тканин гідробіонту *Adamussium colbecki*, проведено електрофоретичний аналіз одержаних ферментів, визначено температурний та рН оптимум, визначено кінетичні константи та підготовлено публікацію до друку)

8. **Raksha N**, Udovychenko I, Halenova T, Vovk T, Savchuk O, Ostapchenko L. Purification and biochemical characterization of fibrino(geno)lytic enzymes from tissues of Antarctic hydrobionts. *Ukrainian Antarctic Journal*. 2020;1:69-81. DOI:10.33275/1727-7485.1.2020.380 (здобувачем очищено фібрино(гено)літичні ферменти з екстракту тканин гідробіонтів *Parborlasia corrugatus*, *Sterechinus neumayeri* та *Odontaster validus*, визначено їх специфічність щодо ланцюгів фібриногену, оцінено амідазну активність, досліджено вплив ферментів на тромбоцити та коагуляційну ланку системи гемостазу, узагальнено результати, підготовлено публікацію до друку)

9.Абрамова М, **Ракша Н.** Оптимізація методологічних підходів щодо одержання цільових білків із гідробіонтів Антарктичного регіону. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. 2019;2(78):7-13. *(здобувачем оптимізовано хроматографічний підхід щодо отримання цільових білкових фракцій з екстракту тканин гідробіонтів, проведено електрофоретичний аналіз отриманих фракцій, підготовлено публікацію до друку)*

10.**Raksha N**, Potalitsyn P, Yurchenko A, Halenova T, Savchuk O, Ostapchenko L. Prevention of diet-induced obesity in rats by oral application of collagen fragments. Archives of Biological Sciences. 2018;70(1):77-86. doi.org/10.2298/ABS170401027R (Scopus, **Q3**) *(здобувачем оптимізовано методика отримання колагену з луски риб Антарктичного регіону, отримано низькомолекулярні фрагменти колагену, оцінено показники, що характеризують антиоксидантно-прооксидантний баланс, досліджено цитокіновий профіль плазми крові та підготовлено публікацію до друку)*

11.**Raksha N**, Halenova T, Vovk T, Ishchuk T, Savchuk O, Ostapchenko L. Novel fibrinolytic metalloprotease from the Antarctic scallop (*Adamussium colbecki*). Advances in Marine Biology. Nova Science Publishers, Inc. 2018;3:1-28. (Scopus) *(здобувачем розроблено трьохстадійну схему очищення фібрино(гено)літичних ферментів на прикладі гідробіонту *Adamussium colbecki*, досліджено специфічність ферментів щодо ланцюгів фібриногену, визначено каталітичні константи, інтерпретовано результати та підготовлено публікацію до друку)*

12.Gladun D, **Raksha N.** Detergent-stable proteases from the antarctic scallop *Adamussium colbecki*. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2016;20(1):62-65. *(здобувачем проведено визначення протеолітичної активності у екстрактах тканин гідробіонту *Adamussium colbecki* за присутності детергентів)*

13.Нагірняк ОЮ, **Ракша НГ**, Савчук ОМ, Остапченко ЛІ. Вплив низькомолекулярних фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, на розвиток ожиріння. Український антарктичний журнал. 2016;15:161-169. *(здобувачем сформульовано концепцію дослідження, оптимізовано методика отримання колагену з луски риб Антарктичного регіону, отримано низькомолекулярні фрагменти колагену, інтерпретовано результати щодо впливу фрагментів колагену на динаміку розвитку ожиріння та підготовлено публікацію до друку)*

14. Gladun D, **Raksha N**, Vovk T, Savchuk O, Ostapchenko L. New fibrinogenases isolated from marine hydrobiont *Adamussium colbecki*. Journal of Biochemistry International. 2016;3(1):9-18. (здобувачем оптимізовано метод отримання фібрино(гено)літичних ферментів, визначено активність одержаних ферментів методом ензим-електрофорезу та за використання хромогенних субстратів, оцінено належність ферментів до серинових чи металозалежних протеїназ, підготовлено публікацію до друку)

15. **Raksha N**, Gladun D, Savchuk O, Ostapchenko L. Protease composition in tissue extracts of hydrobionts from Antarctic region. Journal of Biology and Nature. 2016;5(1):39-46. (здобувачем оцінено присутність у тканинах гідробіонтів *Odontaster validus* і *Glyptonotus antarcticus* ферментів з різною будовою активного центру, інтерпретовано результати та підготовлено публікацію до друку)

16. Gladun D, **Raksha N**, Savchuk O, Ostapchenko L. Collagenolytic activity in tissue extract of *Parborlasia corrugatus* from Antarctic region. Biomedical Research and Therapy. 2015;9(2):354-358. DOI 10.7603/s40730-015-0021-1 (Web of Science) (здобувачем розроблено концепцію дослідження та оптимізовано умови отримання фракцій, збагачених на колагенолітичні ферменти)

17. Gladun D, **Raksha N**, Savchuk O, Ostapchenko L. Methodological approach to the isolation of functionally active proteins from the tissues of marine hydrobionts: an example of *Adamussium colbecki*. Advances in Polar Science. 2015;26(4):299-304. (здобувачем сформульовано підхід щодо комплексного аналізу протеолітичного профілю тканин гідробіонту *Adamussium colbecki* та проведено оцінку ферментативної активності у загальному екстракті тканин)

18. Гладун ДВ, **Ракша НГ**, Савчук ОМ, Остапченко ЛІ. Антарктичні морські гідробіонти - нові перспективні джерела отримання гідролітичних ферментів. Український біофармацевтичний журнал. 2015;41(6):87-90. (здобувачем здійснено формування концепції дослідження, проаналізовано білковий спектр тканин гідробіонтів криль, морська зірка, гігантська ізопода, антарктичний морський їжак, антарктичний морський гребінець та актинія)

19. Гладун ДВ, Вовк ТБ, **Ракша НГ**, Савчук ОМ, Остапченко ЛІ. Підбір оптимальних умов для хроматографічного тестування екстрактів тканин гідробіонтів Антарктичного регіону. Український Антарктичний Журнал. 2015;1(14):168-174. (здобувачем оптимізовано умови хроматографічного розділення екстракту тканин гідробіонту *Adamussium colbecki* на окремі фракції та оцінено присутність у фракціях протеолітичних ферментів методом ензим-електрофорезу)



20.Гладун ДВ, **Ракша НГ**, Савчук АН, Остапченко ЛІ. Перспективи получения колагенолитических ферментов с гидробионтов Антарктического региона. Український Антарктичний Журнал. 2015;1(14):175-179. *(здобувачем здійснено поділ екстракту тканин гідробіонту *Parborlasia corrugatus* на окремі білкові фракції методом хроматографії, що поділяє за розмірами, та проаналізовано протеолітичний профіль отриманих фракцій)*

21.Gladun D, Chornenka N, **Raksha N**, Ostapchuk S. Derivation of trypsin-like enzymes from antarctic marine organisms. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. 2015;1(69):19-22. *(здобувачем підібрано умови отримання трипсиноподібних ферментів з екстракту тканин гідробіонтів методом афінної хроматографії та здійснено електрофоретичний аналіз отриманих фракцій)*

22.Гладун ДВ, **Ракша НГ**, Савчук ОМ, Остапченко ЛІ. Використання електрофоретичних методів для експрес-аналізу білків морських гідробіонтів Антарктичного регіону. Український Антарктичний Журнал. 2014;1(13):192-197. *(здобувачем розроблено концепцію експериментальної частини публікації)*

23.Гладун ДВ, Вовк ТБ, **Ракша НГ**, Савчук ОМ, Остапченко ЛІ. Отримання цільових білкових фракцій з морських гідробіонтів Антарктичного регіону. Український Антарктичний Журнал. 2014;1(13):133-139. *(здобувачем підібрано оптимальні умови розділення екстрактів тканин гідробіонтів криль, морська зірка, немертина методом хроматографії, що поділяє за розмірами)*

#### **Окремі розділи в монографіях:**

24.**Raksha N**, Halenova T, Vovk T, Yurchenko A, Nikolaiava I, Savchuk O, Ostapchenko L. Prevention of diet-induced obesity in rats by administration of peptides derived from marine hydrobiont. In Advances in health and disease Vol. 11, 2019, Nova Science Publishers, Inc. New York, 165-199. *(здобувачем отримано фракцію гідролізних пептидів, досліджено стан антиоксидантно-прооксидантної системи та периферійної серотонінергічної системи, узагальнено результати, підготовлено публікацію до друку)*

25.**Raksha N**, Gladun D, Vovk T, Galenova T, Savchuk O, Ostapchenko L. New Fibrinogenases Isolated from Marine Hydrobiont *Adamusium colbecki*. In New Insights on Chemical Research Vol. 1 (E ISBN No: 978-93-89246-83-4). 2019, Book Publisher International, Chapter 13, 148-159. *(здобувачем розроблено методологію очищення фібрино(гено)літичних ферментів з гідробіонту *Adamusium colbecki*, здійснено біохімічну характеристику одержаних ферментів, узагальнено результати та підготовлено публікацію)*

### Патенти на корисну модель:

26.Савчук ОМ, Остапченко ЛІ, **Ракша НГ**, Галенова ТІ, Вовк ТБ, Джулай АО. Спосіб отримання трипсиноподібного ферменту з екстракту тканин медузи *Diplulmaris antarctica*. Патент на корисну модель. 2023, u202106489.

27.Савчук ОМ, Остапченко ЛІ, **Ракша НГ**, Галенова ТІ, Вовк ТБ, Маланчук ВМ. Спосіб отримання фібрино(гено)літичного ферменту з екстракту тканин морського гребінця. Патент на корисну модель. 2023, u202106490.

### Публікації, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

28.**N.G. Raksha**, S.A. Shchypurskyi, T.M. Maievska, O.M. Savchuk. Effect of collagen peptides from the hydrobiont *diplulmaris antarctica* on obesity development. XI International Antarctic Conference Dedicated to the 160th Anniversary of the birth of Volodymyr Vernadsky – the first President of the Ukrainian Academy of Sciences, Founder of the Study of Noosphere. May 10–12 2023, Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 45-47.

29.**Nataliia Raksha**, Tetiana Halenova, Tetiana Vovk, Olexiy Savchuk, Ludmila Ostapchenko. Antioxidant peptides derived from the antarctic hydrobionts. International Antarctic Conference Dedicated to the 25th Anniversary of Raising of the National Flag of Ukraine at the Ukrainian Antarctic Akademik Vernadsky Station. Kyiv, May 11-13, 2021, Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 42-43.

30.**N. Raksha**, O. Savchuk, L. Ostapchenko. The Effect of the Fibrino(genolytic) Enzymes from Tissues of Antarctic Hydrobionts on Hemostasis. ISTH 2020 Congress, July 12-14 2020. Virtual Congress, Abstract number: PB0765.

31.Л.О. Семенюк, **Н.Г. Ракша**, Т.М. Маєвська, О.М. Савчук. Розробка методологічних підходів до отримання пептидів з відходів рибної промисловості, що виявляють цільові активності. Міжнародна науково-практична конференція, присвяченої 90-річчю Київського національного університету технологій та дизайну та кафедри біотехнології, шкіри та хутра. 14-15 травня 2020, м. Київ, збірник тез, С. 46.

32.**N.G. Raksha**, A.Y. Yurchenko. Peptides derived from the tissues of hydrobiont of the Antarctic region as the substances for treatment of obesity induced metabolic disorders. IX Міжнародна Антарктична Конференція, присвячена 60-річчю підписання Договору про Антарктику 959 р. 14-16 травня 2019, м. Київ, збірник тез, С.93.

33.D.V. Gladun, **N.G. Raksha**, A.M. Savchuk, L.I. Ostapchenko. Obtaining and characterization of trypsin-like enzyme from antarctic scallop (*Adamussium*

*colbecki*). VIII Міжнародна Антарктична конференція, присвячена 25-річчю приєднання України до договору про Антарктику. 16-18 травня 2017, м. Київ, збірник тез, С.54.

34.D.V. Gladun, N.G. Raksha, O.M. Savchuk, L.I. Ostapchenko. Hydrolytic enzymes marine organisms as an instrument for investigating protein–protein interaction. FEBS Journal, 282 (Suppl. 1), 2015, Abstract number: P14-061, P. 146.

35.A. Сорокін, Д.В. Гладун, Н.Г. Ракша. Тестування екстрактів морських гідробіонтів Антарктичного регіону для виявлення цільових активностей. XIII International Scientific Conference of Young Scientists Shevchenkivska Vesna: Life Sciences, April 1-3 2015, Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, P. 87.

**Оцінка мови і стилю дисертації.** Дисертація написана грамотно, із коректним та адекватним використанням наукової термінології. Логічний та послідовний стиль викладення забезпечує легкість та доступність сприйняття матеріалу, узагальнюючих положень та висновків. Оформлення дисертації відповідає вимогам, що пред'являються до подібних робіт. Дисертація не містить секретних відомостей.

**3.** Дисертаційна робота Ракші Наталії Григорівни «Розробка біотехнологічних підходів створення білкових інноваційних продуктів з гідробіонтів Антарктичного регіону», відповідає паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія за такими напрямками досліджень:

- Створення технологій отримання біологічних препаратів, вакцин, тест-систем на основі генно-інженерних, гібридомних методів для діагностики, профілактики та лікування захворювань тварин.
- Розроблення технологій знешкодження токсичних речовин і елементів шляхом регуляції їх біологічного кругообігу та нових підходів в переробці відходів промислового та сільськогосподарського виробництва для отримання сировини та продуктів високої якості, гарантування екологічної безпеки.
- Розроблення й удосконалення технології утилізації відходів виробництва, тощо.

4. Дисертаційна робота Ракші Наталії Григорівни «Розробка біотехнологічних підходів створення білкових інноваційних продуктів з гідробіонтів Антарктичного регіону» відповідає паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія, є завершеною науковою працею, яка має теоретичне та практичне значення. Результати досліджень в повній мірі висвітлені в публікаціях автора. Дисертаційна робота відповідає вимогам пунктів 7-9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 року та МОН України щодо докторських дисертацій.

Представлені у дисертаційній роботі дані мають вагомим практичне значення так, як обґрунтовують можливість використання біологічного ресурсу Антарктичного регіону як одного з можливих підходів на шляху подолання низки викликів, що постали перед біотехнологічним сектором, зокрема, як альтернативний сировинний ресурс для одержання молекул білкової природи пропонується використовувати малоцінних видів гідробіонтів, яким на разі не приділяється належна увага і які можуть бути вагомим сировинним ресурсом; потенційно інвазійних видів, які через зміни кліматичних умов і підвищення температури можуть становити небезпеку експансії та порушення екологічної рівноваги в регіоні; а також використання відходів переробки рибної сировини та нерибних об'єктів промислу.

Запропонована схема створення інноваційних продуктів на основі білкових молекул може бути застосована для очищення цільових білкових молекул не лише з гідробіонтів, а й з будь-якої білоквмісної сировини. Оптимізовані у ході виконання роботи методи вилучення та очищення цих молекул інтегровано у загальний методологічний підхід, який за потреби можна використовувати для комплексного одержання з одного об'єкту всього спектру цільових білкових молекул, що сприятиме максимальному використанні сировини, приведе до зниження рівня білоквмісних відходів, що накопичуються у результаті господарської діяльності людини і досягти у такий спосіб більшого економічного ефекту.



Дисертація Ракші Н.Г. відповідає принципам академічної доброчесності, містить обґрунтовані висновки на основі одержаних особисто здобувачем достовірних результатів, характеризується єдністю змісту.

5. Рекомендувати дисертаційну роботу кандидата біологічних наук, старшого дослідника, асистента кафедри біохімії Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка Міністерства освіти і науки України Ракші Наталії Григорівни на тему «Розробка біотехнологічних підходів створення білкових інноваційних продуктів з гідробіонтів Антарктичного регіону», до захисту у спеціалізованій вченій раді з присудження наукового ступеня доктора наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

15.01.2024.

**Рецензенти:**

Заступник директора з наукової роботи  
ДУ «Інститут харчової  
біотехнології та геноміки НАН України»,  
доктор біологічних наук

  
Сергій ШУЛЬГА

Директор, завідувач відділу геноміки  
та молекулярної біотехнології  
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»,  
академік НАН України,  
доктор біологічних наук

  
Ярослав БЛЮМ

Завідувач відділу популяційної генетики  
ДУ «Інститут харчової  
біотехнології та геноміки НАН України»,  
доктор біологічних наук

  
Ярослав ПІРКО

Власноручні підписи Сергія Шульги, Ярослава Блюма та Ярослава Пірка підтверджую.

Вчений секретар  
ДУ «Інститут харчової  
біотехнології та геноміки НАН України»,  
доктор біологічних наук



  
Ярослав ПІРКО