Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Image not found or type unknow

Державний обліковий номер: 0825U000754

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 06-03-2025

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. ЗУО Мінсін ..

2. Mingxing ZUO

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0009-0002-9121-1120

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: 38987 Освітньо наукова програма (091 Біологія)

Дата захисту: 24-04-2025

Спеціальність за освітою: Мікробіологія

Місце роботи здобувача:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): PhD 7913

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, Львів, 79005, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, Львів, 79005, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Англійська

Коди тематичних рубрик: 34.27, 62.37.99.17, 62.37.99.09

Тема дисертації:

1. Регуляція деградації α-галактозидази та метаболічна інженерія ферментації ксилози у метилотрофних дріжджів Komagataella phaffii та Ogataea polymorpha

2. Regulation of α-galactosidase degradation and metabolic engineering of xylose fermentation in the methylotrophic yeasts Komagataella phaffii and Ogataea polymorpha

Реферат/анотація:

1. Дисертація головним чином зосереджена на трьох розділах: перший передбачає виділення мутантів з дефектами цитозольної деградації α-галактозидази у метилотрофних дріжджів Komagataella phaffii за допомогою хімічного мутагену N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідину (MNNG); метою другого є розробка нових домінантних селективних маркерів для застосування у майбутньому в метаболічній інженерії дріжджів O. polymorpha; третій стосується розробки та впровадження стратегій метаболічної інженерії для отримання штамів Ogataea polymorpha з підвищеною ефективністю продукції етанолу з ксилози. Komagataella phaffii (раніше відомі як Pichia pastoris) є облігатними аеробними метилотрофними дріжджами, здатними використовувати метанол як єдине джерело вуглецю та енергії (Mastropietro et al., 2021). Їх властивості, такі

як здатність до респіраторного росту до дуже високої концентрації клітин, ефективна секреція білка та стабільна експресія рекомбінантних білків, контрольована сильними індуцибельними промоторами, роблять K. phaffii дуже цінними у фармацевтичному та біотехнологічному секторах. У цій дисертації хімічний мутаген N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідин (MNNG) був використаний для відбору нових мутантних штамів, що демонструють порушення деградації α-галактозидази. Порушення деградації цього ферменту у вибраних мутантів оцінювали на основі їх синього кольору на чашках із YPD з X-gal після зміни метанолу на глюкозу у якості ростового субстрату. Було ідентифіковано чотири мутанти, що демонструють підвищену активність α-галактозидази на глюкозі порівняно з батьківським штамом. Крапельний тест та визначення концентрації флоксину B, проведені в умовах голодування за Нітрогеном, виявили дефекти росту цих мутантів. Крім того, біомаса мутантних штамів була значно меншою порівняно з батьківським штамом. Ці дані свідчать про те, що вибрані мутанти мають дефекти автофагії. Також, щоб дослідити пексофагію, у відібраних мутантах після переведення клітин з метанолу на глюкозу вимірювали залишкову активність ключового протеїну матриксу пероксисоми – алкогольоксидази (AOX). Результати продемонстрували, що мутанти MNNG-1 і MNNG-3 мають дефекти як селективної аутофагії, так і пексофагії, тоді як мутанти MNNG-2 і MNNG-4 характеризувалися виключно дефектами селективної аутофагії цитозольної α-галактозидази. Таким чином, це дослідження створює основу для подальшого вивчення автофагії та деградарції білків, прокладаючи шлях до прогресу в біотехнології та фармації, де точний контроль автофагічних процесів є важливим. Таким чином, у цій роботі, ми оцінили два потенційні домінантні маркери для O. polymorpha: мутований ген AUR1 та нативний ген IMH3, що забезпечують стійкість до авреобазидину та мікофенолової кислоти, відповідно. Ці маркери були протестовані для їх потенційного використання у метаболічній інженерії O. polymorpha. Дві мутантні версії гену AUR1 було створено для розробки штамів O. polymorpha, стійких до авреобазидину. В третьому розділі цієї дисертації ми в основному зосереджуємося на підвищеній продукції біоетанолу з ксилози в O. polymorpha. Таким чином, ця дисертація зосереджена на дослідженні ролі гена гексозного сенсора HXS1 та гена AZF1, який кодує гомолог транскрипційного фактора з S. cerevisiae із сенсорними властивостями, у спиртовому бродінні ксилози та глюкози O. polymorpha. Дані свідчать про те, що надекспресія генів AZF1 і HXS1 позитивно впливає на виробництво етанолу з ксилози в штамах O. polymorpha. Враховуючи, що ефективне бродіння ксилози має важливе значення для оптимізації виробництва біоетанолу з лігноцелюлозної біомаси, розуміння цих механізмів є необхідним для вдосконалення промислового застосування та підвищення економічної ефективності біопалива. Крім того, штами, розроблені в цьому дослідженні, можуть бути використані для створення стабільних надрпродуцентів етанолу.

2. This dissertation primarily focuses on three topics: the first involves isolating mutants with defects in cytosolic α-galactosidase degradation in the methylotrophic yeast Komagataella phaffii through the use of the chemical mutagen N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG); The second is to develop new dominant selectable markers for future applications in metabolic engineering of the yeast O. polymorpha; the third addresses the development and implementation of metabolic engineering strategies to produce Ogataea polymorpha strains with enhanced efficiency of ethanol production from xylose. Komagataella phaffii (previously known as Pichia pastoris) is an obligate aerobic, methylotrophic yeast capable of using methanol as sole carbon and energy source (Mastropietro et al., 2021). In this dissertation, the chemical mutagen N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) was utilized to select new mutant strains exhibiting impaired degradation of α-galactosidase. The impairment of this enzyme's degradation in the selected mutants was assessed based on their blue color on YPD with X-gal plates following the shift from methanol to glucose. Four mutants displaying elevated α-galactosidase activity on glucose compared to the parental strain were identified. Viability assays and phloxine B assays conducted under nitrogen starvation conditions revealed growth defects in these mutants. Furthermore, the biomass of the mutant strains was significantly diminished relative to that of the parental strain, indicating an impairment in autophagy. These findings suggest that the selected mutants possess defects in autophagy. Additionally, to investigate pexophagy, residual activity of the key peroxisomal matrix protein alcohol oxidase (AOX) was measured in the selected mutants after shifting cells from methanol to glucose. The results demonstrated that mutants MNNG-1 and MNNG-3 exhibited defects in both selective autophagy and pexophagy,

while mutants MNNG-2 and MNNG-4 were characterized exclusively by defects in selective autophagy of cytosolic □-galactosidase. This study thus establishes a foundational basis for further investigations into autophagy and protein degradation, paving the way for advances in biotechnology and pharmaceutical applications where precise control of autophagic processes is essential. In another topic of this dissertation, novel dominant selectable markers were developed for the nonconventional yeast Ogataea polymorpha. Therefore, in this study, we evaluated two potential dominant selective markers for O. polymorpha: the mutated AUR1 gene and the native IMH3 gene, which confer resistance to aureobasidin and mycophenolic acid, respectively. These markers were tested for their potential application in metabolic engineering of O. polymorpha. Two mutant versions of the AUR1 gene were created to develop aureobasidin-resistant O. polymorpha strains. In the third topic in this dissertation, we primarily focus on elevated bioethanol production from xylose in O. polymorpha. Therefore, this dissertation focuses on investigating the roles of the hexose sensor gene HXS1 and the AZF1 gene, which encodes the O. polymorpha homolog of the S. cerevisiae transcription factor with sensing properties, in the alcoholic fermentation of xylose and glucose by O. polymorpha. The data suggest that overexpressing the AZF1 and HXS1 genes has a positive impact on ethanol production from xylose in O. polymorpha strains. Given that efficient xylose fermentation is essential for optimizing bioethanol production from lignocellulosic biomass, understanding these mechanisms is necessary for advancing industrial applications and enhancing the economic viability of biofuels. Besides, the strains developed in this study can be further utilized to establish stable ethanol superproducers.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- Zuo M, Dmytruk OV, Dmytruk KV, Kang YQ, Sibirny AA. (2025). Isolation of mutants defective in cytosolic □-galactosidase degradation in the methylotrophic yeast Komagataella phaffii. Cytology and Genetics, Vol. 59, No. 1, pp. 71–78. https://doi.org/10.3103/S0095452725010104
- Bratiichuk D, Kurylenko O, Vasylyshyn RV, Zuo M, Kang YQ, Dmytruk K, Sibirny AA. (2020). Development of new dominant selectable markers for the nonconventional yeasts Ogataea polymorpha and Candida famata. Yeast, 37(9-10):505-513. https://doi.org/10.1002/yea.3467
- Semkiv MV, Ruchala J, Tsaruk AY, Zazulya AZ, Vasylyshyn RV, Dmytruk OV, Zuo M, Kang YQ, Dmytruk KV, Sibirny AA. (2022). The role of hexose transporter-like sensor HXS1 and transcription activator involved in carbohydrate sensing AZF1 in xylose and glucose fermentation in the thermotolerant yeast Ogataea polymorpha. Microbial Cell Factories, 21, 162. https://doi.org/10.1186/s12934-022-01889-z
- Zuo M, Dmytruk OV, Dmytruk KV, Sibirny AA.Searching the gene involved in the autophagy of cytosolic and peroxisomal proteins in methylotrophic yeast Komagatella phaffii. // Conference of Young Scientists. May 20, Lviv, Ukraine. – 2024. – P.3.
- Zuo M, Dmytruk OV, Dmytruk KV, Sibirny AA. Screening for mutant strains with autophagy defects of cytosolic protein □-galactosidase in the methylotrophic yeast Komagatella phaffii. // 7th Congress of the All-Ukrainian public organization «Ukrainian Society of Cell Biology» with international representation. September 11-13, Lviv, Ukraine. – 2024. – P.29.
- Zuo M, Vasylyshyn RV, Sibirny AA. The role of transcription activator involved in carbohydrate sensing azf1 in xylose and glucose fermentation in the thermotolerant yeast Ogataea polymorpha. // Conference of Young Scientists of Institute of Cell Biology, June 8, Lviv, Ukraine. – 2022. – P.19.

- Zuo M, Vasylyshyn RV, Sibirny AA. Improvement of alcoholic fermentation in yeast by protoplast fusant of Saccharomyces cerevisiae and Ogataea polymorpha strains. // 1st International conference of young scientists of the Institute of Cell Biology and the University of Rzeszów “Current Issues in Cell Biology and Biotechnology”, June 6, Lviv, Ukraine. – 2021. – P. 24.

Наукова (науково-технічна) продукція: методи, теорії, гіпотези

Соціально-економічна спрямованість: збільшення обсягів виробництва; поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сибірний Андрій Андрійович
2. Andrii A. Sybirnyi

Кваліфікація: д.б.н., професор, академік НАН України, 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-8579-1566

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, Львів, 79005, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кравець Олена Адольфівна
2. Olena A. Kravets

Кваліфікація: д.б.н., с.н.с., 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-4167-0492

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: вул. Байди-Вишневецького, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Філоненко Валерій Вікторович
2. Valeriy V. Filonenko

Кваліфікація: д.б.н., професор, академік НАН України, 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0009-0001-6480-0619

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стасик Олег Володимирович
2. Oleg V. Stasyk

Кваліфікація: д. б. н., с.д., 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-8135-6102

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, Львів, 79005, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Гайда Галина Зуфарівна

2. Halyna Z. Haida

Кваліфікація: к. х. н., старший науковий співробітник, 02.00.10

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-4015-8083

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, Львів, 79005, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Гончар Михайло Васильович
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Гончар Михайло Васильович
Відповідальний за підготовку облікових документів	Фінюк Наталія Степанівна (0938607841, nataliyafiniuk@gmail.com)
Реєстратор	Юрченко Тетяна Анатоліївна
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна