Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0825U000753

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 06-03-2025

Статус: Запланована

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. ЛЮ Вен ..
2. Wen LIU

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-2757-6504

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:

Спеціальність за освітою: Наука про море

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 7915

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

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, 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, буд. 14/16, 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, 34.27.21, 62.37.99.17, 62.37.99.09

Тема дисертації:

1. Нові дані щодо ролі GND1, RIB6, RFE1 та деяких інших генів у надсинтезі рибофлавіну дріжджами Candida famata

2. New findings on the role of GND1, RIB6, RFE1 and some other genes on riboflavin oversynthesis of the yeast Candida famata

Реферат:

1. У дисертаційній роботі досліджено вплив низки генів, що беруть участь у синтезі вітаміну B2, його попередника рибулозо-5-фосфату та екскреції цього вітаміну в середовище, на продукцію рибофлавіну флавіногенними дріжджами Candida famata та подальшого застосування цих знань для створення стабільних надпродуцентів рибофлавіну. Аналіз ринку, опублікований Straits Research, показує, що світовий ринок рибофлавіну досяг приблизно 13,46 мільярда доларів США у 2023 році (Riboflavin market size, share 2023-2031, n.d.). Виробництво рибофлавіну шляхом мікробної ферментації має такі переваги, як низька вартість виробництва, короткий час виробництва та використання відновлюваних ресурсів, таких як цукор або рослинна олія, порівняно з хімічним синтезом (Richter et al., 1997; Hohmann et al., 1998; Stahmann et al., 2000;

Liu et al., 2023). Тому в останні десятиліття хімічний синтез рибофлавіну був повністю заміщений мікробною ферментацією (Schwechheimer et al., 2016). На сьогодні, промислове виробництво рибофлавіну здійснюється з використанням рекомбінантних штамів цвілевих грибів Ashbya gossypii та бактерій Bacillus subtilis (Abbas and Sibirny, 2011; Kato and Park, 2012; Liu et al., 2020; You et al., 2021; Wang et al., 2021). Шлях біосинтезу рибофлавіну починається з двох безпосередніх попередників, гуанозинтрифосфату (GTP), що походить від шляху біосинтезу пуринів, і рибулозо-5-фосфату (Ru5P), що походить від окисної ланки пентозофосфатного шляху (PPP) (Bacher et al., 2000; Abbas and Sibirny, 2011). Тому метою цієї роботи було дослідження впливу генів, залучених у пентозофосфатний шлях, а також нових факторів в регуляцію біосинтезу рибофлавіну C. famata. Ми виявили, що надекспресія гена GND1 забезпечує підвищення синтезу рибофлавіну трансформантами приблизно в два рази. Вперше описано позитивний вплив 6-фосфоглюконатдегідрогенази на біосинтез рибофлавіну флавіногенними дріжджами. Надекспресія гена ZWF1 викликає протилежний ефект і зумовлює зниження швидкості росту та рівня продукції рибофлавіну. Причини цього феномену залишаються нез'ясованими. Було сконструйовано рекомбінантні штами C. famata шляхом одночасної надекспресії трьох генів: GND1, RIB6 та RFE1, які кодують 6PGDH, DHBP-синтазу та екскретазу рибофлавіну, відповідно. Експресія різних комбінацій двох генів, а також коекспресія всіх трьох генів призводила до збільшення продукції рибофлавіну в C. famata VKM Y-9 у різних середовищах. Було показано, що рекомбінантний штам, з коекспресією трьох генів, характеризувався 3,3-кратним зростанням продукції рибофлавіну в сироватці порівняно з вихідним штамом. Іншою частиною роботи було конструювання мутанта C. famata з пошкодженим геном VMA1, який кодує □-субодиницю вакуолярної АТФ-ази (Förster et al., 1999, 2001). Мутант vma1Δ виявляв 9,4-кратне збільшення продукції рибофлавіну порівняно з вихідним штамом L2. Подібний ефект було продемонстровано для флавіногенних дріжджів Picha guilliermondi (Boretsky et al., 2011). Слід зазначити, що фактор транскрипції Sef1 (кодується геном SEF1) є одним із позитивних регуляторів біосинтезу рибофлавіну у флавіногенних дріжджів, зокрема у C. famata (Dmytruk et al., 2006). У дисертації також досліджено вплив промоторів гена SEF1 різних дріжджів на продукцію рибофлавіну. Ми виявили, що рекомбінантні штами, які експресують ген SEF1 під контролем промоторів з дріжджів C. famata, Candida albicans і Candida tropicalis збільшували продукцію рибофлавіну в 18,8, 19,4 і 13,5 разів порівняно з вихідним штамом L2, відповідно. У дисертаційній роботі описано конструювання рекомбінантного штаму V9/RFE1-RIB6-GND1 з коекспресією генів REF1, RIB6, та GND1. Штам V9/RFE1-RIB6-GND1 характеризувався збільшеною продукцією рибофлавіну при культивування в середовищі на основі молочної сироватки. Дріжджі C. famata тривалий час використовувалися у промисловому виробництві вітаміну B2, що підкреслює їх потенціал у промисловому застосуванні. Триває робота в напрямку ідентифікації нових факторів, що залучені в регуляцію синтезу рибофлавіну. Експериментальні дані, отримані при виконані цієї дисертаційної роботи, є важливими для розуміння окремих механізмів контролю біосинтезу рибофлавіну. Отримані результати є передумовою створення високопродуктивних стабільних продуцентів рибофлавіну. Застосування молочної сироватки, що належить до відходів молочної промисловості, як субстрату для культивування дріжджових продуцентів вітаміну B2, здешевлює процес виробництва та водночас вирішує питання утилізації відходів сирного виробництва.

2. У дисертаційній роботі досліджено вплив низки генів, що беруть участь у синтезі вітаміну B2, його попередника рибулозо-5-фосфату та екскреції цього вітаміну в середовище, на продукцію рибофлавіну флавіногенними дріжджами Candida famata та подальшого застосування цих знань для створення стабільних надпродуцентів рибофлавіну. Аналіз ринку, опублікований Straits Research, показує, що світовий ринок рибофлавіну досяг приблизно 13,46 мільярда доларів США у 2023 році (Riboflavin market size, share 2023-2031, n.d.). Виробництво рибофлавіну шляхом мікробної ферментації має такі переваги, як низька вартість виробництва, короткий час виробництва та використання відновлюваних ресурсів, таких як цукор або рослинна олія, порівняно з хімічним синтезом (Richter et al., 1997; Hohmann et al., 1998; Stahmann et al., 2000; Liu et al., 2023). Тому в останні десятиліття хімічний синтез рибофлавіну був повністю заміщений мікробною ферментацією (Schwechheimer et al., 2016). На сьогодні, промислове виробництво рибофлавіну здійснюється з використанням рекомбінантних штамів цвілевих грибів Ashbya gossypii та бактерій Bacillus subtilis (Abbas

and Sibirny, 2011; Kato and Park, 2012; Liu et al., 2020; You et al., 2021; Wang et al., 2021). Шлях біосинтезу рибофлавіну починається з двох безпосередніх попередників, гуанозинтрифосфату (GTP), що походить від шляху біосинтезу пуринів, і рибулозо-5-фосфату (Ru5P), що походить від окисної ланки пентозофосфатного шляху (PPP) (Bacher et al., 2000; Abbas and Sibirny, 2011). Тому метою цієї роботи було дослідження впливу генів, залучених у пентозофосфатний шлях, а також нових факторів в регуляцію біосинтезу рибофлавіну C. famata. Ми виявили, що надекспресія гена GND1 забезпечує підвищення синтезу рибофлавіну трансформантами приблизно в два рази. Вперше описано позитивний вплив 6-фосфоглюконатдегідрогенази на біосинтез рибофлавіну флавіногенними дріжджами. Надекспресія гена ZWF1 викликає протилежний ефект і зумовлює зниження швидкості росту та рівня продукції рибофлавіну. Причини цього феномену залишаються нез'ясованими. Було сконструйовано рекомбінантні штами C. famata шляхом одночасної надекспресії трьох генів: GND1, RIB6 та RFE1, які кодують 6PGDH, DHBP-синтазу та екскретазу рибофлавіну, відповідно. Експресія різних комбінацій двох генів, а також коекспресія всіх трьох генів призводила до збільшення продукції рибофлавіну в C. famata VKM Y-9 у різних середовищах. Було показано, що рекомбінантний штам, з коекспресією трьох генів, характеризувався 3,3-кратним зростанням продукції рибофлавіну в сироватці порівняно з вихідним штамом. Іншою частиною роботи було конструювання мутанта C. famata з пошкодженим геном VMA1, який кодує □-субодиницю вакуолярної АТФ-ази (Förster et al., 1999, 2001). Мутант vma1Δ виявляв 9,4-кратне збільшення продукції рибофлавіну порівняно з вихідним штамом L2. Подібний ефект було продемонстровано для флавіногенних дріжджів Picha guilliermondi (Boretsky et al., 2011). Слід зазначити, що фактор транскрипції Sef1 (кодується геном SEF1) є одним із позитивних регуляторів біосинтезу рибофлавіну у флавіногенних дріжджів, зокрема у C. famata (Dmytruk et al., 2006). У дисертації також досліджено вплив промоторів гена SEF1 різних дріжджів на продукцію рибофлавіну. Ми виявили, що рекомбінантні штами, які експресують ген SEF1 під контролем промоторів з дріжджів C. famata, Candida albicans і Candida tropicalis збільшували продукцію рибофлавіну в 18,8, 19,4 і 13,5 разів порівняно з вихідним штамом L2, відповідно. У дисертаційній роботі описано конструювання рекомбінантного штаму V9/RFE1-RIB6-GND1 з коекспресією генів REF1, RIB6, та GND1. Штам V9/RFE1-RIB6-GND1 характеризувався збільшеною продукцією рибофлавіну при культивування в середовищі на основі молочної сироватки. Дріжджі C. famata тривалий час використовувалися у промисловому виробництві вітаміну B2, що підкреслює їх потенціал у промисловому застосуванні. Триває робота в напрямку ідентифікації нових факторів, що залучені в регуляцію синтезу рибофлавіну. Експериментальні дані, отримані при виконані цієї дисертаційної роботи, є важливими для розуміння окремих механізмів контролю біосинтезу рибофлавіну. Отримані результати є передумовою створення високопродуктивних стабільних продуцентів рибофлавіну. Застосування молочної сироватки, що належить до відходів молочної промисловості, як субстрату для культивування дріжджових продуцентів вітаміну B2, здешевлює процес виробництва та водночас вирішує питання утилізації відходів сирного виробництва.

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:

- 1. Liu, W., Tsyrulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Kang, Y., and Sibirny, A. (2025). Co-overexpression of genes RFE1, GND1, and RIB6 enhances riboflavin production in yeast Candida famata. Cytology and Genetics, 59(1), 63–70. https://doi.org/10.3103/S0095452725010074

- 2. Ruchala, J., Andreieva, Y., Tsyrulnyk, A., Sobchuk, S., Najdecka, A., Liu, W., Kang, Y., Dmytruk, O., Dmytruk, K., Fedorovych, D., and Sibirny, A (2022). Cheese whey supports high ribolavin synthesis by the engineered strains of the lavinogenic yeast Candida famata. Microbial Cell Factories, 21(1), 161-169. https://doi.org/10.1186/s12934-022-01888-0
- 3. Andreieva, Y., Petrovska, Y., Lyzak, O., Liu, W., Kang, Y., Dmytruk, K., and Sibirny, A. (2020). Role of the regulatory genes SEF1, VMA1 and SFU1 in riboflavin synthesis in the flavinogenic yeast Candida famata (Candida flareri). Yeast, 37(9–10), 497–504. https://doi.org/10.1002/yea.3503
- 4. Andreieva, Y., Lyzak, O., Liu, W., Kang, Y., Dmytruk, K., and Sibirny, A. (2020). SEF1 and VMA1 genes regulate riboflavin biosynthesis in the flavinogenic yeast Candida famata. Cytology and Genetics, 54(5), 379–385. https://doi.org/10.3103/s0095452720050023
- 5. Liu, W. Exploration of Role of Overexpressed Genes ZWF1 and GND1 in Riboflavin Synthesis by Candida famata (Candida flareri) // 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 02, Lviv, Ukraine. – 2021. – P. 25.
- 6. Liu, W. Role of the pentose phosphate pathway in riboflavin oversynthesis of the flavinogenic yeast Candida famata (Candida flareri) // Conference of Young Scientists of Institute of Cell Biology, June 08, Lviv, Ukraine. – 2021. – P. 21.
- 7. Andreieva, Y., Liu, W., Dmytruk, K., Sibirny, A. Evaluation of the effect of overexpressed genes ZWF1 and GND1 on riboflavin synthesis by flavinogenic yeast Candida famata (Candida flarerii) // 8th International Conference "Human – Nutrition – Environment", October 13-14, Rzeszow, Poland. – 2021. – P. 66.
- 8. Liu, W., Tsyrulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Sibirny, A. Development of platform for constructing of riboflavin overproducers based on the flavinogenic yeast Candida famata // XX International Scientific Conference for Students and PhD Students "Youth and Progress of Biology", April 18-20, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 183-184.
- 9. Liu, W., Tsyrulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Sibirny, A. Combination of using positive regulator genes for riboflavin overproduction in the flavinogenic yeast Candida famata // Conference of Young Scientists of Institute of Cell Biology, May 20, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 2.
- 10. Liu, W., Tsyrulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Sibirny, A. Construction of riboflavin overproducers by introduction of genes RFE1, RIB6, and GND1 into the yeast Candida famata // 7th Congress for All-Ukrainian Public Organization Ukrainian Society of Cell Biology with International Representation, September 11-13, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 105.
- 11. Fedorovych, D., Tsyrulnyk, A., Dzanajeva L., Liu, W., Ruchala, J., Wojdyla D., Dmytruk, K., Sibirny, A. Candida famata cell factory for production of vitamin B2 // 7th Congress for All-Ukrainian Public Organization Ukrainian Society of Cell Biology with International Representation, September 11-13, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 93.

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

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами: 0115U001362; 0119U001677; 0121U10926

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сибірний Андрій Андрійович

2. Andriy A. Sybirnyy

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, буд. 14/16, 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. Осташ Богдан Омелянович
2. Bohdan O. Ostash

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5904-5957

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шульга Сергій Михайлович
2. Sergiy M. Shulga

Кваліфікація: д. б. н., професор, старший науковий співробітник, 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-1080-8583

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, буд. 2-а, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Закальський Андрій Євстахович
2. Andriy Zakalskiy

Кваліфікація: к. б. н., доц., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-8853-1097

Додаткова інформація:

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

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, Львів, 79005, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Демків Ольга Михайлівна
2. Olha Demkiv

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-7999-4436

Додаткова інформація:

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

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, 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	Стасюк Наталія Євгенівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Стасюк Наталія Євгенівна
Відповідальний за підготовку облікових документів	Фінюк Наталія Степанівна (0938607841, nataliyafiniuk@gmail.com)
Реєстратор	УкрІНТЕІ
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна