

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0524U000002

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 03-01-2024

Статус: Підтверджена МОН

Реквізити наказу МОН / наказу закладу: Наказ МОН від 21.02.2024 №220



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стасюк Наталія Євгенівна

2. Nataliya Y. Stasyuk

Кваліфікація: к. х. н., 02.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-6550-8145

Вид дисертації: доктор наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 03.00.07

Назва наукової спеціальності: Мікробіологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 17-01-2024

Спеціальність за освітою: Хімія

Місце роботи здобувача: 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:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 35.246.01

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: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.27, 47.09.65, 62.39.51

Тема дисертації:

1. Мікробні ензими у поєднанні з нанозимами для створення біо(хемо)сенсорів та тест-наборів для визначення вмісту практично важливих аналітів
2. Microbial enzymes combined with nanozymes for creation of bio(chemo)sensors and test kits for determining the content of practically important analytes

Реферат:

1. Представлена робота присвячена комплексному дослідженню структурних, фізико-хімічних та каталітичних властивостей нанозимів у поєднанні їх з мікробними ензимами, а також вивченню біологічної та токсичної дії (in vivo) нанозимних композитів на клітини дріжджів *Ogataea (Hansenula) polymorpha*. Основну увагу в роботі зосереджено на кон'югації наноматеріалів з мікробними ензимами та створенню на їх основі нових біо(хемо)сенсорів та тест-наборів для визначення вмісту практично важливих аналітів, зокрема, креатиніну, L-аргініну, L-лактату, глюкози, етанолу та метиламіну. Отримано експериментальні дані, які вперше в науковій практиці доводять можливість заміни природного ензиму – каталази штучними «катазимами», які повністю відновлюють здатність мутантних безкаталазних клітин метилотрофних

дріжджів рости на метанолі. Молекулярно-генетичний аналіз та секвенування локусу геному штаму дріжджів *O. polymorpha* C-105 виявив дві мутації у гені каталази: заміна азотистої основи цитозину (C) у 895 положенні кодуєчої послідовності на азотисту основу тимін (T) та делеція C у положенні 896. Така комбінація веде до зсуву рамки зчитування і утворення стоп-кодону TGA, що спричинює у клітинах штаму C-105 продукцію нефункціонального, неповного протеїну. Уперше показано різну цитотоксичну дію синтезованих нанозимів на клітини дріжджів *O. polymorpha*. Уперше розроблено новий ензиматичний метод на основі апоензиму аргінази I та 2,3-бутандіонмонооксиму для селективного та ультрачутливого визначення вмісту йонів Mn^{2+} та Co^{2+} . Уперше використано поєднання каталітичних наноматеріалів та високоочищених препаратів ензимів класу гідролаз: аргінази I, креатиніндеїмінази, аргініндеїмінази при формуванні біоселективних елементів амперометричних біосенсорів на L-аргінін та креатинін. Уперше за використання наноміметиків пероксидази і природної алкогольоксидази створено нові ензимо-нанозимні методи аналізу етанолу.

2. The presented work is devoted to a comprehensive study of the structural, physicochemical, and catalytic properties of nanozymes in combination with microbial enzymes, as well as to the study of the biological and toxic effects (in vivo) of nanozyme composites on *Ogataea* (*Hansenula*) *polymorpha* yeast cells. The main focus of the work is directed at the conjugation of nanomaterials with microbial enzymes and on their basis the creation of new bio(chemo)sensors and test kits for determining the content of practically important analytes, in particular, creatinine, L-arginine, glucose L-lactate, ethanol, and methyl amine. Experimental data were obtained which, for the first time in the world, prove the possibility of replacing the natural enzyme catalase with artificial "catzyme", which restores the ability of mutant non-catalase yeast cells to grow on methanol. Molecular-genetic analysis and sequencing of the genome locus of the yeast strain *O. polymorpha* C-105 revealed two mutations in the catalase gene: replacement of nitrogenous base of cytosine (C) at the 895 position of the coding sequence by thymine (T) and deletion of C at the 896 position; this combination leads to a shift in the reading frame and the formation of the stop codon TGA, which causes the production of non-functional, incomplete catalase protein in the strain C-105. The different cytotoxic effect of synthesized nanozymes on the yeast *O. polymorpha* cells was shown for the first time. For the first time, a combination of catalytic nanomaterials and highly purified preparations of enzymes of hydrolases, in particular, arginase I, creatinine deaminase, and arginine deaminase was used in the formation of bioselective elements of amperometric biosensors selective for L-arginine and creatinine. New enzyme-nanozyme methods for ethanol analysis were created for the first time using nanomimetics of peroxidase and natural alcohol oxidase.

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) Stasyuk N, Zakalskiy A, Nogala W, Gawinkowski S, Ratajczyk T, Bonarowska M, Demkiv O, Zakalska O, Gonchar M (2023) A reagentless amperometric biosensor for creatinine assay based on recombinant creatinine deiminase and N-methylhydantoin-sensitive CoCu nanocomposite. *Sensors and Actuators B: Chemical* 393: 34276. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2023.134276>
- 2) Prokopiv T, Stasyuk N, Gonchar M (2023) Nanozyme can substitute a natural *Ogataea polymorpha* catalase enzyme in vivo. *Microchimica Acta* 190(5): 174. doi: 10.1007/s00604-023-05753-8
- 3) Stasyuk N, Demkiv O, Gayda G, Zakalska O, Nogala W, Gonchar M (2022) Amperometric biosensors based on alcohol oxidase and peroxidase-like nanozymes for ethanol assay. *Microchimica Acta* 189: 474. doi:

10.1007/s00604-022-05568-z

- 4) Stasyuk N, Gayda G, Kavetsky T, Gonchar M (2022) Nanozymes with reductase-like activities: electrochemical and antioxidant properties. *RSC Advances* 12: 2026 – 2035. doi: 10.1039/d1ra08127f
- 5) Stasyuk N, Demkiv O, Gayda G, Zakalska O, Zakalskiy A, Serkiz R, Kavetsky T, Gonchar M (2022) Reusable alcohol oxidase-nPtCu/alginate beads for highly sensitive ethanol assay in beverages. *RSC Advances* 12: 21309 – 21317. doi: 10.1039/d2ra02106d
- 6) Stasyuk N, Demkiv O, Gayda G, Zakalskiy A, Klepach H, Bisko N, Gonchar M, Nisnevitch M (2022) Highly Porous 3D Gold Enhances Sensitivity of Amperometric Biosensors Based on Oxidases and CuCe Nanoparticles. *Biosensors* 12: 472. doi: 10.3390/bios12070472
- 7) Stasyuk NYe, Gayda GZ, Zakalskiy AE, Fayura LR, Zakalska OM, Sibirny AA, Nisnevitch M, Gonchar MV (2022) Amperometric biosensors for L-arginine and creatinine assay based on recombinant deiminases and ammonium-sensitive Cu/Zn(Hg)S nanoparticles. *Talanta* 238 (1): 122996, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122996>
- 8) Stasyuk N, Gayda G, Demkiv O, Darmohray L, Gonchar M, Nisnevitch M (2021) Amperometric biosensors for L-arginine determination based on L-arginine oxidase and peroxidase-like nanozymes. *Applied Sciences* 11(15): 7024. <https://doi.org/10.3390/app11157024>
- 9) Demkiv O, Stasyuk N, Serkiz R, Gayda G, Nisnevitch, M, Gonchar M (2021) Peroxidase-Like Metal-Based Nanozymes: Synthesis, Catalytic Properties, and Analytical Application. *Applied Science* 11: 777. <https://doi.org/10.3390/app11020777>
- 10) Zakalskiy A, Stasyuk N, Zakalska O, Boretsky Y, Gonchar M (2020) Overexpression and one-step renaturation-purification of the tagged creatinine deiminase of *Corynebacterium glutamicum* in *Escherichia coli* cells. *Cell Biology International* 44 (5), 1204–1211. <https://doi.org/10.1002/cbin.11320>
- 11) Stasyuk N, Gayda G, Zakalskiy A, Zakalska O, Serkiz R, Gonchar M (2019) Amperometric biosensors based on oxidases and PtRu nanoparticles as artificial peroxidase. *Food Chemistry* 285: 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.117>
- 12) Stasyuk N, Gayda G, Zakalskiy A, Zakalska O, Errachid A, Gonchar M (2018) Highly selective apo-arginase based method for sensitive enzymatic assay of manganese (II) and cobalt (II) ions. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 193, 349 – 356. doi: 10.1016/j.saa.2017.12.031
- 13) Stasyuk N, Gayda G, Yepremyan H, Stepien A, Gonchar M (2017) Fluorometric enzymatic assay of L-arginine. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 193 170: 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.07.019>
- 14) Stasyuk N, Gayda G, Zakalskiy A, Zakalska O, Fayura L, Vovk O, Stasyk O, Sibirny A, Gonchar M (2017) Recombinant Forms of Arginase and Arginine Deiminase as Catalytic Components of Argitest Enzymatic Kit. *Science and Innovation* 13(4): 56–63. <https://doi.org/10.15407/scine13.04.056>
- 15) Stasyuk N, Gayda G, Klepach H, Semashko T, Gonchar M (2017) Nanoparticles of Noble Metals for Enzymatic Sensors: An Amperometric Glucose Biosensor for Wine Analysis. *Sensors Letters* 15(8), 647 – 654. <https://doi.org/10.1166/sl.2017.3862>
- 16) Stasyuk N, Gayda G, Fayura L, Boretsky Y, Gonchar M, Sibirny A (2016) Novel arginine deiminase-based method to assay L-Arginine in beverages. *Food Chemistry* 201: 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.093>
- 17) Stasyuk N, Gayda G, Serkiz RJa, Gonchar M (2016) The “green” synthesis of gold nanoparticles by the yeast *Hansenula polymorpha*. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 73: 96 – 102. http://nbuv.gov.ua/UJRN/VLNU_biol_2016_73_18
- 18) Stasyuk N, Gayda G, Klepach H, Gonchar M (2016) Nanoparticles of noble metals as effective platforms for the fabrication of amperometric biosensor on hydrogen peroxide. *Sensors Letters* 14: 1169 – 1179 <https://doi.org/10.1166/sl.2016.3748>
- 19) Karkovska M, Smutok O, Stasyuk N, Gonchar M (2015) L-Lactate-selective microbial sensor based on flavocytochrome b2-enriched yeast cells using recombinant and nanotechnology approaches, *Talanta* 144,

1195–1200. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.07.081>

- 20) Stasyuk NYe, Bass S. R., Gayda G. Z., Yepremyan H. S., Gonchar MV (2015) New enzymatic method for L-arginine assay based on human arginase I and urease. *ScienceRise* 6 (1), 43–48. <https://journals.uran.ua/sciencerrise/article/view/45126>
- 21) Stasyuk NYe, Gayda GZ, Serkiz RJa, Gonchar MV (2015) Cell Imaging with Fluorescent Bi-Metallic Nanoparticles. *Journal of Advances in Chemistry* 11 (4): 3499 – 3511. <https://rajpub.com/index.php/jac/article/view/6694>
- 22) Stasyuk N, Gayda G, Gonchar M (2014) L-arginine-selective microbial amperometric sensor based on recombinant yeast cell over-producing human liver arginase I. *Sensors and Actuators B: Chemical* 204: 515–521. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.06.112>
- 23) Stasyuk NYe, Smutok OV, Zakalskiy AE, Zakalska OM, Gonchar MV (2014) Methylamine-sensitive amperometric biosensor based on (His)₆-tagged *Hansenula polymorpha* methylamine oxidase immobilized on the gold nanoparticles. *BioMed Research International* 2014: 1–8. doi: 10.1155/2014/480498
- 24) Synenka MM, Stasyuk NYe, Semashko TV, Gayda GZ, Mikhailova RV, Gonchar MV (2014) Immobilization of oxidoreductases at/on gold and silver nanoparticles. *Studia Biologica* 8 (3–4): 5–12. <http://publications.lnu.edu.ua/journals/index.php/biology/article/view/192>
- 25) Патент України на корисну модель №142490 Україна, МПК G01N21/64 Моноензиматичний спосіб визначення вмісту креатиніну та амонію в біологічних рідинах людини / Гончар М.В., Закальський А.Є., Закальська О.М., Стасюк Н.Є., Прокопів Т.М., Борецький Ю.Р., Демків О.М.; заявник і власник Інститут біології клітини НАН України, Львівський державний університет фізичної культури імені Івана Боберського – № u201911544, заявл. 29.11.2019, опубл. 10.06.2020, Бюл. №11. – 8 с. [патент України на корисну модель]
- 26) Патент України на корисну модель №107543 Україна, МПК G01N 21/64 Ензиматичний метод визначення L-аргініну в крові людини / Стасюк Н.Є., Гайда Г.З., Закальський А.Є., Закальська О.М., Гончар М.В.; заявник і власник Інститут біології клітини НАН України – № u201512716, заявл. 22.12.2015, опубл. 10.06.2016, Бюл. №11. – 5 с. [патент України на корисну модель]
- 27) Патент на корисну модель №108773 Україна, МПК G01N 33/52, G01N 21/64 Ензиматично-хімічний метод визначення вмісту L-аргініну в харчових продуктах та алкогольних напоях / Стасюк Н.Є., Гайда Г.З., Фаюра Л.Р., Борецький Ю.Р., Сибірний А.А., Гончар М.В.; заявник і власник Інститут біології клітини НАН України – № u201601804, заявл. 25.02.2016, опубл. 25.07.2016, Бюл. №14. – 7 с. [патент України на корисну модель]
- 28) Gayda G, Stasyuk N, Zakalskiy A, Gonchar M, Katz E (2022) Arginine-hydrolyzing enzymes for electrochemical biosensors. *Current Opin Electrochem.* 33: 100941. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2451910322000060>
- 29) Stasyuk N, Smutok O, Demkiv O, Prokopiv T, Gayda G, Nisnevitch M, Gonchar M. (2020) Synthesis, Catalytic Properties and Application in Biosensorics of Nanozymes and Electronanocatalysts: A Review. *Sensors*, 20 (16): 4509. <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/16/4509>
- 30) Zakalskiy A., Stasyuk N., Gonchar M. (2019) Creatinine Deiminase: Characterization, Using in Enzymatic Creatinine Assay, and Production of the Enzyme. *Curr Protein Pept Sci.* 20: 465–470 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30426898/>
- 31) Gayda G, Stasyuk N, Serkiz R, Gonchar M. Fluorescent nanoparticles of noble metals for cell imaging (ред. Н.А.Серебрякова). Київ: НВП «Видавництво «Проект наукова книга»; 2017. С. 156 – 165. <http://ir.library.nmu.com/handle/123456789/7658>
- 32) Карковська М, Стасюк Н., Гайда Г., Смуток О., Гончар М. Наноматеріали у конструюванні біосенсорів медичного призначення (ред. Н.А.Серебрякова). Київ: НВП «Видавництво «Проект наукова книга»; 2017. С. 165 – 177. <http://ir.library.nmu.com/handle/123456789/7658>
- 33) Gonchar M, Smutok O, Karkovska M, Stasyuk N, Gayda G. Yeast-based biosensors for clinical diagnostics and food control (Ed. A.A. Sibirny). Springer International Publishing AG "Biotechnology of Yeasts and

Filamentous Fungi"; 2017. P. 392 – 400. <https://dokumen.pub/non-conventional-yeasts-from-basic-research-to-application-1st-ed-2019-978-3-030-21109-7-978-3-030-21110-3.html>

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

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

Охоронні документи на ОПВ:

Винаходи, корисні моделі, промислові зразки

Патенти: 1. Патент України на корисну модель №142490 Україна, МПК G01N21/64 Моноензиматичний спосіб визначення вмісту креатиніну та амонію в біологічних рідинах людини / Гончар М.В., Закальський А.Є., Закальська О.М., Стасюк Н.Є., Прокопів Т.М., Борецький Ю.Р., Демків О.М.; заявник і власник Інститут біології клітини НАН України, Львівський державний університет фізичної культури імені Івана Боберського – № u201911544, заявл. 29.11.2019, опубл. 10.06.2020, Бюл. №11. – 8 с. [патент України на корисну модель] 2. Патент України на корисну модель №107543 Україна, МПК G01N 21/64 Ензиматичний метод визначення L-аргініну в крові людини / Стасюк Н.Є., Гайда Г.З., Закальський А.Є., Закальська О.М., Гончар М.В.; заявник і власник Інститут біології клітини НАН України – № u201512716, заявл. 22.12.2015, опубл. 10.06.2016, Бюл. №11. – 5 с. [патент України на корисну модель] 3. Патент на корисну модель №108773 Україна, МПК G01N 33/52, G01N 21/64 Ензиматично-хімічний метод визначення вмісту L-аргініну в харчових продуктах та алкогольних напоях / Стасюк Н.Є., Гайда Г.З., Фаюра Л.Р., Борецький Ю.Р., Сибірний А.А., Гончар М.В.; заявник і власник Інститут біології клітини НАН України – № u201601804, заявл. 25.02.2016, опубл. 25.07.2016, Бюл. №14. – 7 с. [патент України на корисну модель]

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами: 0113U000142; 0116U002208; 0119U001418; 0112U002963; 0118U006259; 0120U104115; 0123U102859

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

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. Іваниця Володимир Олексійович

2. Volodymyr O. Ivanytsia

Кваліфікація: д. б. н., професор, член-кор. НАН України, 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5325-3800

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Код за ЄДРПОУ: 02071091

Місцезнаходження: вул. Дворянська, буд. 2, Одеса, 65082, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Солдаткін Олександр Олексійович

2. Oleksandr O. Soldatkin

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-2362-5487

Додаткова інформація:

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

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стойка Ростислав Стефанович

2. Rostyslav S. Stoika

Кваліфікація: д. б. н., професор, член-кор. НАН України, 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5719-2187

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. Федорович Дарія Василівна

2. Dariya V. Fedorovych

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-6956-3109

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. Дмитрук Костянтин Васильович

2. Kostyantyn V. Dmytruk

Кваліфікація: д. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-3661-8913

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

Сибірний Андрій Андрійович

Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні

Стойка Ростислав Стефанович

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