Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U000159

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 05-01-2024

Статус: Наказ про видачу диплома

Реквізити наказу МОН / наказу закладу: Наказ Ректора Львівського національного університету імені Івана Франка від 29.01.2024 р. № 120

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тістечок Степан Іванович
2. Stepan I. Tistechok

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-2116-746X

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія та біохімія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Біологія та біохімія

Дата захисту: 11-01-2024

Спеціальність за освітою: Генетика

Місце роботи здобувача: 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:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 35.051.130_ID 3085

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:

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

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:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.15.23, 34.27.21, 34.27.25, 62.99.37

Тема дисертації:

1. Актиноміцети ризосфери ялівцю високого Juniperus excelsa M.-Bieb.: генетичне різноманіття та біосинтетичні властивості.

2. Actinomycetes from the rhizosphere of Greek juniper Juniperus excelsa M.-Bieb.: Genetic diversity and biosynthetic properties.

Реферат:

1. Дисертаційна робота присвячена дослідженню генетичного різноманіття природних ізолятів актиноміцетів ризосфери ялівцю високого (Juniperus excelsa M.-Bieb.) та їхнього потенціалу як продуцентів біологічно активних сполук, зокрема антибіотиків. Поява і швидке поширення патогенних мікроорганізмів з множинною стійкістю до антибіотиків стали нагальною проблемою глобальної охорони здоров'я. Ця тривожна тенденція не лише створює значні виклики в усьому світі, але й загрожує звести нанівець досягнутий прогрес у боротьбі з інфекційними захворюваннями. Актиноміцети – різноманітна група грампозитивних бактерій, які широко розповсюджені в різних біотопах, особливо в ґрунтах, де відіграють важливу роль у забезпечені кругообігу поживних речовин. Ці бактерії відіграли вирішальну роль у розробці багатьох життєво важливих терапевтичних засобів для боротьби з інфекційними, онкологічними та іншими

захворюваннями. Однак, сьогодні темпи відкриття нових сполук із антибіотичними властивостями значно сповільнилися. Одним з підходів до вирішення цієї проблеми є дослідження нових і недостатньо вивчених середовищ існування мікроорганізмів для виявлення продуцентів нових біологічно активних сполук. В цьому аспекті, територія України є одним з таких регіонів, мікробне біорізноманіття якого практично не вивчали. Досліджено філогенетичне різноманіття актиноміцетів, виділених з ризосфери J. excelsa, в результаті якого, визначено родини та роди, до яких належать ці ізоляти. Встановлено приналежність виділених актиноміцетів до одинадцяти родів Actinoplanes, Actinorectispora, Amycolatopsis, Kribbella, Micrococcus, Micromonospora, Nocardia, Promicromonospora, Rhodococcus, Saccharopolyspora та Streptomyces класу Actinomycetia. Виявлено, що найбільша кількість ізолятів, 350 або 94% від усіх, належали до роду Streptomyces. Здійснено аналіз антагоністичних властивостей актиноміцетів проти широкого пулу тест-культур мікроорганізмів. Показано, що значна кількість ізолятів здатна пригнічувати ріст збудників внутрішньолікарняних інфекцій (Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae subsp. pneumonia, Proteus vulgaris та Candida albicans). Окрім цього, виявили понад 60% ізолятів, які затримували ріст хоча б однієї з використаних тест-культур фітопатогенних мікроорганізмів. Серед них найбільше антагоністів було проти грамгенативних бактерій фітопатогенних бактерій. Для значної кількості досліджених природних ізолятів ризосфери J. excelsa властиві потенційні ріст-стимулювальні властивості, такі як здатність до асиміляції атмосферного азоту, солюбілізації нерозчинних форм Фосфору, синтез індоліл-3-оцтової кислоти та сидерофорів, які задіяні в асиміляції мікроелементів, зокрема заліза. Дереплікативний аналіз екстрактів вторинних метаболітів актиноміцетних ізолятів, які мали різний спектр та рівень антимікробної дії виявлено антибіотики десертоміцин А, канханаміцин А, стрепторубін В, спектинабілін, антиміцини, спіраміцини та стамбоміцини. Застосовуючи специфічні мікробні біосенсори здійснено скринінг продуцентів певних класів антибіотиків. Внаслідок чого виявлено два ізоляти, які продукували бернінаміцини А і В, 31 ізолят із потенційною здатністю до синтезу антибіотиків-інгібіторів клітинної стінки бактерій та 26 потенційних продуцентів памаміцинів. В результаті рутинного скринінгу вторинних метаболітів досліджуваних ізолятів з широким спектром антимікробної дії відкрито два нові антибіотики фурахіноцини L і K. Вони у своїх структурах містять модифікації полікетид-нафтохінонового скелету, які до нині ще не були описані для фурахіноцинів. Ідентифіковано кластер генів, який ймовірно відповідає за біосинтез фурахіноцинів K та L. Запропоновано ймовірний шлях біосинтезу фурахіноцинів K та L на основі передбачуваних функцій генів наявних у кластері, даних біосинтезу фурахіноцину C та подібних сполук. Встановлено, що фурахіноцин K виявляє цитотоксичну активність проти клітинної лінії HepG2 зі значенням IC50 12,6 мкг/мл, проте не має антимікробної дії. Водночас, для фурахіноцину L характерна антибактеріальна активність проти грампозитивних бактерій. Виконане дослідження вказує на великий біосинтетичний потенціал природних ізолятів актиноміцетів, виділених з ризосфери J. excelsa. Виявлені в ході роботи рідкісні роди актиноміцетів можуть бути щедрим джерелом нових біологічно активних речовин. Створена в ході роботи колекція природних ізолятів актиноміцетів може бути платформою для розроблення нових терапевтичних препаратів медичного і ветеринарного призначення, а також біопрепаратів для сільського господарства.

2. This dissertation presents an investigation of the genetic diversity of natural isolates of actinomycetes from the rhizosphere of Juniperus excelsa M.-Bieb. and their potential as producers of biologically active compounds, including antibiotics. The emergence and rapid dissemination of multidrug-resistant pathogens have become a pressing global health concern. This alarming trend not only presents substantial worldwide challenges but also jeopardizes the progress achieved in combatting infectious diseases. Actinomycetes are a group of Gram-positive bacteria that are ubiquitous in various habitats, especially in soils, where they play an important role in ensuring nutrient cycling. These bacteria have played a crucial role in the development of many life-saving therapeutic agents to fight infectious, cancer and other diseases. However, today, the pace of discovery of new compounds with antibiotic properties has slowed considerably. One approach to solving this problem is to study new and insufficiently studied microbial habitats to identify of producers of new biologically active compounds. In this respect, the territory of Ukraine, the microbial biodiversity of which has not been studied, is one of such regions.

The phylogenetic diversity of actinomycetes isolated from the rhizosphere of J. excelsa was studied, and the families and genera to which these isolates belonged were determined. It was found that they represent eleven genera of the class Actinomycetia: Actinoplanes, Actinorectispora, Amycolatopsis, Kribbella, Micrococcus, Micromonospora, Nocardia, Promicromonospora, Rhodococcus, Saccharopolyspora and Streptomyces. The largest number of isolates 350 (94% of all) belonged to the genus Streptomyces. The antagonistic properties of the actinomycetes against a diverse range of test microorganism cultures were analysed. A significant number of isolates demonstrated the ability to inhibit the growth of pathogens associated with hospital-acquired infections, including Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae subsp. pneumonia, Proteus vulgaris and Candida albicans. Additionally, more than 60% of the isolates exhibited the capacity to inhibit the growth of at least one of the test cultures of phytopathogenic microorganisms used. Among these, the majority of antagonists were effective against Gram-negative phytopathogenic bacteria. A significant number of the studied natural isolates from the rhizosphere of J. excelsa exhibited plant growth-promoting properties, such as the assimilation of atmospheric nitrogen, solubilization of insoluble forms of phosphorus (P), synthesis of indole-3-acetic acid and production of siderophores. Dereplicative analysis of secondary metabolite extracts from actinomycete isolates, exhibiting varying spectra and levels of antimicrobial activity, revealed the presence of antibiotics, such as desertomycin A, canhanamycin A, streptorubin B, spectinabilin, antimycins, spiramycins and stambomycins. We employed specific microbial biosensors to screen for producers of particular antibiotic classes. As a result, two isolates producing berninamycins A and B, 31 isolates with the potential ability to synthesise bacterial cell wall inhibitors and 26 potential producers of pamamycins were identified. As a result of routine screening for secondary metabolites on the studied isolates with a broad range of antimicrobial activity, two new antibiotics, furaquinocins L and K, were discovered. Notably, these compounds feature modifications of the polyketide-naphthoquinone skeleton in their structures, which have not previously been described in furaquinocins. A cluster of genes likely responsible for the biosynthesis of furaquinocins K and L was identified.A putative biosynthesis pathway for furaquinocins K and L was proposed, considering the predicted functions of the genes found in the cluster and drawing from data on the biosynthesis of furaquinocin C and related compounds. It was observed that furaquinocin K exhibits cytotoxic activity against the HepG2 cell line with an IC50 value of 12.6 μg/ml, but it does not demonstrate antimicrobial activity. Furaquinicin L displays antibacterial activity against Gram-positive bacteria. This study highlights the significant biosynthetic potential of natural actinomycete isolates obtained from the rhizosphere of J. excelsa. The discovery of rare actinomycete genera during this research suggests a promising source of novel biologically active substances. Moreover, the collection of natural actinomycete isolates established during this study can serve as a platform for the development of new therapeutic drugs for medical and veterinary applications, as well as biological products for agriculture.

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: Не застосовується

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- 1. Тістечок, С.І., Сирватка, В.Я., Федоренко, В.О., Громико, О.М. (2018). Актиноміцети ризосфери Juniperus excelsa Bieb. – антагоністи фітопатогенної мікробіоти. Фактори експериментальної еволюції організмів, 23, 340–345.
- 2. Rebets, Y., Schmelz, S., Gromyko, O., Tistechok, S., Petzke, L., Scrima, A., Luzhetskyy, A. (2018). Design, development and application of whole-cell based antibiotic-specific biosensor. Metabolic engineering, 47, 263–270.

- 3. Тістечок, С.І., Дацюк, Ю.Р., Федоренко, В.О., Громико, О.М. (2020). Штам актиноміцетів Streptomyces sp. Je 1-42: філогенетичний аналіз, біологічні властивості та спектр вторинних метаболітів. Фактори експериментальної еволюції організмів, 27, 276–281.
- 4. Tistechok, S.I., Tymchuk, I.V., Korniychuk, O.P., Fedorenko, V.O., Luzhetskyy, A.M., Gromyko, O.M. (2021). Genetic identification and antimicrobial activity of Streptomyces sp. strain Je 1–6 isolated from rhizosphere soil of Juniperus excelsa Bieb. Cytology and Genetics, 55, 28–35.
- 5. Tistechok, S., Myronovskyi, M., Fedorenko, V., Luzhetskyy, A. Gromyko O. (2022). Screening of thiopeptideпproducing streptomycetes isolated from the rhizosphere soil of Juniperus excelsa. Current Microbiology, 79(10), 305.
- 6. Tistechok, S., Stierhof, M., Myronovskyi, M., Zapp, J., Gromyko, O., Luzhetskyy, A. (2022) Furaquinocins K and L: Novel naphthoquinone-based meroterpenoids from Streptomyces sp. Je 1-369. Antibiotics (Basel), 11(11), 1587.
- 7. Тістечок, С., Федоренко, В., Громико, О. (2023) Штам актиноміцетів Streptomyces sp. Je 1-93, продуцент антифунгальних антибіотиків. Вісник Львівського університету. Серія біологічна, 88, 17–25.
- 8. Tistechok, S., Roman, I., Fedorenko, V. Luzhetskyy, A., Gromyko, O. (2023) Diversity and bioactive potential of Actinomycetia from the rhizosphere soil of Juniperus excelsa. Folia Microbiologica, 68(4), 645–653.
- 9. Громико О.М., Тістечок С.І., Федоренко В.О. Штам актиноміцетів Streptomyces sp. IMB Ac-5039 - продуцент тіопептидного антибіотика бернінаміцину А : Пат. 122104 Україна : МПК (2020.01) C12N 1/20 (2006.01) C12R 1/465 (2006/01) A61K 31/00. № a 201903180; заявл. 01.04.2019; опубл. 10.09.2020, Бюл. № 17.
- 10. Тістечок С.І., Громико О.М., Федоренко В.О. Штам актиноміцетів Strepomyces sp. IMB Ac-5038 – продуцент антибіотика лідикаміцину та його похідних : Пат. 123122 Україна : МПК C12N 1/20 (2006.01) C12R 1/465 (2006.1) G01N 33/569 (2006.01) C12P 17/18 (2006.01). № a 2019 08169; заявл. 15.07.2019; опубл. 17.02.2021, Бюл. №7.
- 11. Тістечок С., Конечний Ю., Тимчук І., Панас М., Корнійчук О., Федоренко В., Громико О. (2018, 10–12 квітня). Актиноміцети ризосфери Juniperus excelsa Bieb. – продуценти антимікотичних сполук. Збірник тез XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології", Львів, Україна, 150-151.
- 12. Тістечок С., Корнійчук О., Тимчук І., Громико О., Федоренко В. (2018, 16–20 квітня). Антибіотична активність актиноміцетів ризосфери Juniperus excelsa Bieb. – антагоністів MRSA. Третій щорічний регіональний науковий симпозіум в рамках концепції „Єдине здоров'я", Київ, Україна, 135.
- 13. Тістечок С., Мицик Ю., Тимчук І., Конечний Ю., Качор А. (2018, 28–30 листопада). Метаболічний профіль та антибактеріальна активність штаму Streptomyces sp. Lv 1-120. Збірник тез XIII міжнародної конференції молодих учених "Біологія: від молекули до біосфери" Харків, Україна, 122-123.
- 14. Бабко А., Тістечок С., Федоренко В., Громико О. (2019, 9–11 квітня). Вплив плейотропного транскрипційного регулятора Adpa на антибіотичну активність штамів ризосфери Juniperus excelsa Bieb. Збірник тез XV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології", Львів, Україна, 16-17.
- 15. Мушинська В., Тістечок С., Мицик Ю., Лужецький А., Федоренко В., Громико О. (2019, 9–11 квітня). Скринінг продуцентів памаміцинів серед актиноміцетних штамів ризосфери Juniperus excelsa Bieb. Збірник тез XV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології", Львів, Україна, 24.
- 16. Тістечок С., Федоренко В., Лужецький А., Громико О. (2021, 19–21 квітня). Аналіз послідовності чернетки генома штаму Streptomyces sp. Je 1-369. Збірник тез XVII Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології", Львів, Україна, 116-117.
- 17. Тістечок С.І., Мироновський М. Л., Федоренко В. О., Лужецький А. М.,Громико О.М. (2022, 25 серпня). Скринінг продуцентів тіопептидних антибіотиків з використанням репортерної системи на основі промотора гена tipA. XXII міжнародна Гамовська конференція "The importance of G. Gamow's ideas for biology of the 21st century", Одеса, Україна, 115-116.

- 18. Рибчук А., Тістечок С., Федоренко В., Громико О. (2023, 26–28 квітня) Характеристика актиноміцетів родини Pseudonocardiaceae з ризосфери рослин кримського півострова. Збірник тез XIX Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь і поступ в біології", Львів, Україна, 96-97.
- 19. Тістечок С.І., Ребець Ю.В., Федоренко В.О., Лужецький А.М., Громико О.М. (2023, 11–13 травня) Гетерологічна експресія кластеру генів нового природного антибіотика Je478 у штамах стрептоміцетів. Збірник тез VII міжнародної науково-практичної конференції "Тернопільські біологічні читання – Ternopil bioscience – 2023", Тернопіль, Україна, 165-168.

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами: №0103U008453, №0116U008070, №0120U102039

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Громико Олександр Миколайович

2. Oleksandr M. Gromyko

Кваліфікація: к. б. н., с.д., 03.00.15

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-8107-0128

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 6507657157; Web of Science Researcher ID: K-9562-2017; https://scholar.google.com/citations?hl=uk&user=5xLdBrIAAAAJ

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:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Білявська Людмила Олексіївна

2. Liudmyla O. Biliavska

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

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-8785-4361

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 57209322406; https://scholar.google.com.ua/citations?user=nbkqiqAAAAAJ

Повне найменування юридичної особи: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417087

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 154, Київ, 03143, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Пороннік Оксана Олександрівна
2. Oksana O. Poronnik

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-0105-6925

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 36915663000; https://scholar.google.com.ua/citations?user=pQV0fc4AAAAJ

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. Романюк Наталія Дмитрівна
2. Nataliya D. Romanyuk

Кваліфікація: к. б. н., доц., 03.00.12

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-3662-8874

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 36488549100; Web of Science Researcher ID: C-4866-2016; https://scholar.google.com/citations?user=MHp78l0AAAAJ

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. Мороз Оксана Михайлівна
2. Oksana M. Moroz

Кваліфікація: к. б. н., с.д., 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-2351-5301

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 6701657456; Web of Science Researcher ID: L-1424-2017; https://scholar.google.com/citations?hl=uk&user=raZ_Z3MAAAAJ

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:

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Терек Ольга Іштванівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Терек Ольга Іштванівна
Відповідальний за підготовку облікових документів	Жак Ольга Володимирівна
Реєстратор	УкрІНТЕІ
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна