Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0821U101035

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 29-05-2021

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Манько Назар Олегович

2. Manko Nazar Olegovych

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія. Біологія

Галузь / галузі знань:

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 13-05-2021

Спеціальність за освітою: Генетика

Місце роботи здобувача: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

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

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 35.246.002

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

Код за ЄДРПОУ: 25255758

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

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

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, м. Львів, Львівська обл., 79005, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик:

Тема дисертації:

1. Вплив біологічно активних речовин у комплексах з фрагментами хітозану і похідними полівінілпіролідону на життєздатність прокаріотичних та евкаріотичних клітин.

2. The influence of biologically active substances in complexes with fragments of chitosan derivatives and polyvinylpyrrolidone on the viability of prokaryotic and eukaryotic cells.

Реферат/анотація:

1. Дисертація присвячена дослідженню в галузі використання полімерів та їх похідних в медицині та біотехнології. Метою даної роботи було охарактеризувати фізико-хімічні і біологічні властивості фрагментів хітозану і його комплексів із різними біологічно активними речовинами, а також визначити вплив комплексу модифікованого полівінлпіролідону зі специфічними пептидами на мікроорганізми, нормальні та пухлинні лінії клітин ссавців. У дисертаційній роботі розроблено оригінальну методику отримання хітозану із хітину тіл бджіл та панцирів крабів, описані умови його стерилізації та зберігання. Встановлено значну гетерогеність отримуваних зразків хітозану з різних джерел, включаючи промислові зразки. Здійснене вивчення протимікробних властивостей хітозану відносно таких штамів мікроорганізмів як S. aureus, P.

aeruginosa, E. coli, C. albicans. Продемонстровано високу перспективність хітозану як протигрибкового препарату, у т.ч. проти штамів C. albicans із мультирезистентністю до антибіотиків. Встановлено, що зменшення молекулярної маси хітозану спричиняє підвищення його розчинності, але в той же час призводить до зниження його цитотоксичної дії на дріжджі Candida albicans, і, навпаки, фракції хітозану з більшою молекулярною масою володіють вищою протигрибковою активністю. У роботі розроблено методику розчинення хітозану з використанням гліколевої кислоти, що дозволило отримувати розчинні зразки хітозану з високою молекулярною масою при нейтральному pH. Розроблено оригінальну методику отримання хітозан-меланінового комплексу із підмору бджіл. Вивчено активність даного комплексу щодо штамів C. albicans ATCC 885-655, і клінічного ізоляту C. albicans N12, з мультирезистентністю до протигрибкових препаратів. Продемонстровано вищу активність хітозан-меланінового комплексу відносно штаму N12 з мультирезистентністю порівняно з такою активністю хітозану. Виявлено загибель дріжджових клітин C. albicans N12 при контакті з молекулами хітозану. Показано низьку токсичність цього комплексу, а також хітозану щодо клітин ссавців за дози 0,2 мг/мл, у тому числі, щодо нормальних лімфоцитів периферичної крові людини, що свідчить про його біо-сумісність. Розроблено оригінальну методику отримання хітину із плодових тіл базидіальних грибів, як ще одного перспективного джерела для отримання хітозану в промислових масштабах. Проведене спектральне дослідження хітозану, отриманого з грибів. Створено комплекс хітозану краба з етакридину лактатом й обгрунтовано використання хітозану як носія медикаментозних препаратів. Встановлено вивільнення етакридину лактату з його комплексу з хітозаном, що забезпечило пролонгацію перебування етакридину лактату в крові піддослідних щурів у порівнянні з вільним етакридину лактатом. Отримані результати свідчать про можливість пролонгації дії медикаментозних препаратів у кровоносному руслі за допомогою їх кон'югування з хітозаном. Здійснено ковалентне кон'югування мономерної форми трипептиду Сер-Про-Цис з похідними полівінлпіролідону, що дозволило створити кон'югати з різною біологічною активністю. Проведено скринінгове дослідження даних кон'югатів і вибрано модифікацію з найвищою цитотоксичною активністю in vitro щодо злоякісних клітин ліній MCF7 і HCT116 за дози кон'югату, який складався з полімеру (1,66 мг\мл) і ковалентно зв'язаного пептиду (0,13 мг\мл). Встановлено інгібування росту злоякісної лімфоми NK/Ly мишей пухлиноносіїв лінії C57/Black за кумулятивної дози 30 мг/кг протягом введення кон'югату in vivo. Разом з тим, дана комплексна сполука має відносно малу токсичність щодо псевдонормальних клітин лінії HEK293 ембріона нирки людини й активованих нормальних лімфоцитів периферичної крові людини. Встановлено, кон'югат P4P із флуоресцентною міткою FITC у діапазоні 2-6 год проникає в клітини лінії MCF7 карциноми молочної залози людини і накопичується у везикулах клітин, але не потрапляє в їхнє ядро. Доведено утворення активних форм кисню (за допомогою барвника DCFDA, що виявляє пероксид водню) за дії комплексу P4P на клітини лінії MCF7 карциноми молочної залози людини. Розроблено оригінальний підхід для отримання білків-мішеней дії різних чинників з використанням магнітних частинок. За допомогою MALDI-TOFF мас-спектрометрії вперше ідентифіковано внутрішньоклітинні білки, які взаємодіють з комплексом P4P в клітинах мишачої лімфоми NK/Ly і можуть слугувати його молекулярними мішенями. Серед ідентифікованих білків знаходяться структурні білки клітин (актин, кератин цитоскелету, цитоплазматичний бета-актин, міозин) і сироватковий альбумін.

2. This research focuses on the use of polymers and their derivatives in medicine and biotechnology. The aim of this study was to characterize the physicochemical and biological properties of chitosan fragments and its complexes with various biologically active substances, as well as to determine the effect of a complex of modified polyvinylpyrrolidone with specific peptides on microorganisms, normal and tumor mammalian cell lines. In the dissertation work the original method of obtaining chitosan from chitin of bee bodies and crabs' shells is developed, the conditions of its sterilization and storage are described. Significant heterogeneity of the obtained samples of chitosan from different sources, including industrial samples, was established. Realized study the antimicrobial properties of chitosan against such strains as S. aureus, P. aeruginosa, E. coli, C. albicans. The high promise of chitosan as an antifungal drug, including against strains of C. albicans with multidrug resistance. Decrease molecular weight chitosan causes increase its solubility, but at the same time it reduces the cytotoxic

effects on yeast Candida albicans, and, conversely, chitosan fractions with higher molecular weight have higher antifungal activity. The method of dissolving chitosan using glycolic acid was developed in the work, which allowed to obtain soluble samples of chitosan with high molecular weight at neutral pH. An original method of obtaining a chitosan-melanin complex from bee stings has been developed. The activity of this complex against strains of C. albicans ATCC 885-655, and clinical isolate of C. albicans N12, with multidrug resistance to antifungal drugs was studied. The higher activity of the chitosan-melanin complex against strain N12 with multidrug resistance was demonstrated compared to that of chitosan. The death of yeast cells of C. albicans N12 upon contact with chitosan molecules was detected. The low toxicity of this complex, as well as chitosan against mammalian cells at a dose of 0.2 mg / ml, including against normal human peripheral blood lymphocytes, has been shown, indicating its biocompatibility. An original method for obtaining chitin from the fruiting bodies of basidiomycetes has been developed as another promising source for obtaining chitosan on an industrial scale. A spectral study of chitosan derived from fungi was performed. A complex of chitosan crab with ethacridine lactate was created and the use of chitosan as a carrier of drugs was substantiated. The release of ethacridine lactate from its complex with chitosan was established, which ensured the prolongation of ethacridine lactate in the blood of experimental rats in comparison with free ethacridine lactate. The results indicate the possibility of prolonging the action of drugs in the bloodstream by conjugating them with chitosan. Covalent conjugation of the monomeric form of the tripeptide Ser-Pro-Cis with polyvinylpyrrolidone derivatives was performed, which allowed to create conjugates with different biological activity. A screening study of these conjugates and selected the modification with the highest cytotoxic activity in vitro against malignant cells of the MCF7 and HCT116 lines at a dose of conjugate consisting of polymer (1.66 mg/ml) and covalently bound peptide (0, 13 mg/ml). Inhibition of NK/Ly malignant lymphoma growth was observed in tumor-bearing mice of the C57/Black line at a cumulative dose of 30 mg/kg during in vivo administration of the conjugate. However, this complex compound has relatively low toxicity to pseudonormal cells of the HEK293 line of the human kidney embryo and activated normal human peripheral blood lymphocytes. It was found that the P4P conjugate with a FITC fluorescent label in the range of 2-6 h penetrates the cells of the MCF7 line of human breast cancer and accumulates in the vesicles of cells, but does not enter their nucleus. An original approach has been developed to obtain target proteins of various factors using magnetic particles. Using MALDI-TOFF mass spectrometry was first identified intracellular proteins that interact with the complex P4P cells in mouse lymphoma NK / Ly and it can serve as molecular targets. Among the identified proteins are structural proteins of cells (actin, cytoskeleton keratin, cytoplasmic beta-actin, myosin) and serum albumin. The results of the study of the P4P complex confirm the prospects of using modified polyvinylpyrrolidone derivatives for covalent conjugation with molecules of biological genesis to create new drugs. An important consequence of such modifications is an increase in the biological activity of the resulting conjugate.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стойка Ростислав Степанович

2. Stojka Rostyslav Stepanovych

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стойка Ростислав Степанович

2. Stojka Rostyslav Stepanovych

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Іскра Руслана Ярославівна

2. Iskra Ruslana Yaroslavivna

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Осташ Богдан Омелянович

2. Ostash Bohdan Omelianovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стасик Олег Володимирович

2. Stasyk Oleh Volodymyrovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Барська Марина Леонідівна

2. Barska Maryna Leonidivna

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради Федорович Дарія Василівна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Федорович Дарія Василівна

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності Баланчук І.С.