Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0820U100250

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 12-10-2020

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Мотроненко Валентина Василівна
2. Motronenko Valentyna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 162

Назва наукової спеціальності: Хімічна та біоінженерія. Біотехнології та біоінженерія

Галузь / галузі знань:

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 28-09-2020

Спеціальність за освітою: Обладнання фармацевтичної та мікробіологічної промисловості

Місце роботи здобувача: Національний технічний університет України "Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського"

Код за ЄДРПОУ: 02070921

Місцезнаходження: проспект Перемоги, 37, м. Київ, Київ, 02121, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 26.002.006

Повне найменування юридичної особи: Національний технічний університет України "Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського"

Код за ЄДРПОУ: 02070921

Місцезнаходження: проспект Перемоги, 37, м. Київ, Київ, 02121, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

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

Повне найменування юридичної особи: Національний технічний університет України "Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського"

Код за ЄДРПОУ: 02070921

Місцезнаходження: проспект Перемоги, 37, м. Київ, Київ, 02121, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 62.13.27

Тема дисертації:

1. Біотехнологія субстанції рекомбінантного інтерлейкіну-7 людини

2. Biotechnology of the substance of recombinant human interleukin-7

Реферат/анотація:

1. Інтерлейкін-7 людини (ІЛ-7) – лімфопоетичний фактор росту, який займає особливе положення серед інших цитокінів через його унікальну функцію в гематопоезі, що не дублюється іншими факторами. Відсутність функціонального ІЛ-7 може бути однією з причин важкого комбінованого імунодефіциту. Результатом відсутності функціонального ІЛ-7 в організмі є лімфопенія та, як наслідок, важкий імунодефіцит. При збільшенні кількості ІЛ-7 рівень В- і Т-лімфоцитів в крові підвищується. ІЛ-7 бере участь у формуванні лімфовузлів. Основними продуцентами ІЛ-7 є стромальні клітини кісткового мозку та тимуса, а також деякі інші клітини організму людини. Наукова новизна отриманих результатів. Оптимізовано склад живильного середовища для біосинтезу рІЛ-7 бактеріями E. coli (вихід – 0,95 мг/мл) із високою біологічною активністю in vitro та in vivo, що дозволило підвищити вихід рІЛ-7 у 1,3 рази у порівнянні із базовою технологією. Показано стимулюючу дію екстрактів клівії кіноварної і зеферантесу великоквіткового (0,5-

1,0%) та ліпосомальної форми вітаміну К1 (15-25 мг/мл) як стимулюючих добавок до поживного середовища (приводить до збільшення виходу цільового продукту у 1,69 рази). Біологічно активні речовини досліджених фітоекстрактів взаємодіють з поринами зовнішньої мембрани E. coli, що, ймовірно, є причиною підвищення біосинтетичної активності рекомбінантного продуцента. Показано, що застосування рІЛ-7 (5мкг рІЛ-7 на добу внутрішньочеревно, щодня до загоєння рани) прискорює швидкість загоєння ран у дослідних тварин та елімінації Pseudomonas aeruginosa із них. Результати роботи доповнили сучасні науково-методичні підходи створення препаратів рекомбінантних білків терапевтичного призначення. Експериментально обґрунтовано раціональний кількісний склад органічних компонентів та мінеральних речовин живильного середовища для культивування рекомбінантного продуценту E. coli, що дозволило збільшити вихід рІЛ-7 у 1,3 рази. Доведено стимулюючу дію екстрактів клівії кіноварної і зефірантесу великоквіткового як добавок до живильного середовища при культивуванні рекомбінантних бактерії E. coli в діапазоні 0,5-1,0%, що забезпечувало підвищення виходу цільового продукту в 1,69-1,82 рази. Показано стимулюючий вплив ліпосомальної форми вітаміну К1 в концентрації 15-25 мг/мл на рівень біосинтезу рІЛ-7 (збільшення в 1,74-1,81 рази). Показано, що механізми біологічної активності фітоекстрактів на синтез рІЛ-7 бактеріальними продуцентами, включають взаємодію з поверхневими структурами бактеріальної клітини. Розроблено удосконалену схему очистки рІЛ-7 за рахунок введення стадії високоспецифічної імуноафінної хроматографії, що дозволило досягти чистоти отримуваної субстанції на рівні 98%. Для синтезованої імуноафінної колонки на основі тетраетоксисилану визначено раціональні технологічні параметри хроматографічної очистки, які дозволяють отримувати восокоочищений продукт упродовж 15 циклів безперервної роботи та у широкому діапазоні концентрацій продукту (0,005-20мкг/мл). Експериментально доведено ефективність застосування рІЛ-7 при лікуванні ранової інфекцій P. aeruginosa. Показано, що у мишей, які отримували лікування препаратом рІЛ-7 (5мкг на добу внутрішньочеревно), загоєння ран і елімінація збудника наступає на 5 днів раніше, ніж у мишей без лікування препаратом рІЛ-7. Розроблено технологічну та апаратурно-технологічну схему отримання субстанції рІЛ-7 людини на основі отриманих експериментальних даних. Проведено оцінку ризиків технологічного процесу отримання субстанції рІЛ-7 та визначено найбільш критичні стадії, що дозволило розробити систему контролю виробництва для запобігання та мінімізації ризиків. Проведено техніко-економічну оцінку розробленої технології отримання субстанції рІЛ-7: визначено собівартість кінцевого продукту та потужність виробництва з огляду на забезпеченість пацієнтів України та поширеність відповідних патологій. Розрахункова потужність виробництва склала 240г субстанції рІЛ-7 на рік, а її собівартість – 43 478грн. Розрахункова сировина собівартість готової ін'єкційної форми препарату рІЛ-7 (3-60мкг на дозу) становить 38-1512грн., що обумовлює його соціальну доступність для населення України.

2. Human's interleukin-7 (IL-7) is a lymphopoietic growth factor that holds a special position among other cytokines because of its unique function in hematopoiesis, which is not duplicated by other factors. Lack of functional IL-7 may be one of the causes of severe combined immunodeficiency. The result of functional's lack IL-7 in the body is lymphopenia and, as a consequence, severe immunodeficiency. The level of B- and T-lymphocytes in the blood increases with the increase in the number of IL-7, IL-7 is involved in the lymph nodes' formation. The major producers of IL-7 are bone marrow and thymus stromal cells, as well as some other cells in the human body. Scientific novelty of the obtained results. The composition of the nutrient medium for rIL-7 biosynthesis was optimized by E. coli bacteria (yield 0.95mg/ml) with high in vitro and in vivo biological activity, which increased the rIL-7 yield 1.3 times compared to the basic technology. The stimulating effect extract of Cliviaminiata and Zephyranthes grandiflora (0.5-1.0%) and liposomal form of vitamin K1 (15-25mg/ml) as stimulating additives to the nutrient medium is shown (leading to an increase in the yield of the target product 1.69 times). The biologically active substances of the investigated phytoextracts interact with the pores of the outer membrane of E. coli, which is likely to cause an increase in the biosynthetic activity of the recombinant producer. It has been shown that administration of rIL-7 (5mg rIL-7 daily intraperitoneally, daily before wound healing) accelerates the rate of wound healing in experimental animals and the elimination of Pseudomonas aeruginosa from them. The results of the work are in close connection with the current scientific and methodological approaches for the creation of recombinant proteins for therapeutic purposes. The practical significance of the results obtained. The

technological and instrumental scheme of obtaining substance rIL-7 was developed and the critical points of the production process were analysed. The rational quantitative composition of organic components and minerals of the nutrient medium for the cultivation of recombinant producer E. coli was experimentally substantiated, which allowed to increase the yield of RIL-7 1.3 times. The stimulating effect of clover extracts of cinnabar and zephyrantes large-flowered as additives to the nutrient medium in the cultivation of recombinant E. coli bacteria in the range of 0.5-1.0%, which provided an increase in the yield of the target product 1.69-1.82 times. The stimulating effect of the liposomal form of vitamin K1 at a concentration of 15-25mg/ml on the level of rIL-7 biosynthesis (an increase of 1.74-1.81 times) is shown. The mechanisms of biological activity of phytoextracts for the synthesis of rIL-7 by bacterial producers have been shown to include interaction with the surface structures of a bacterial cell. An advanced scheme for purification of rIL-7 was developed by introducing a highly specific immunoaffinity chromatography step, which allowed the substance to be obtained at 98%. For the tetraethoxysilane-synthesized immunoaffinity column, rational technological parameters of chromatographic purification have been determined, which allow to obtain a highly purified product over 15 cycles of continuous operation and over a wide range of product concentrations (0.005-20μg/ml). The efficacy of the use of rIL-7 in the treatment of P. aeruginosa wound infections has been experimentally proven. It was shown that in mice treated with rIL-7 (5μg per day intraperitoneally), wound healing and pathogen elimination occurred 5 days earlier than in mice without rIL-7 treatment. The technological and equipment-technological scheme of obtaining the substance of human rIL-7 based on the obtained experimental data was developed. The risks of the process of obtaining the substance rIL-7 were evaluated and the most critical stages were identified, which allowed the development of a production control system to prevent and minimize risks. The feasibility study of the developed technology of obtaining substance rIL-7 has been carried out: the cost of the final product and the production capacity have been determined in view of the safety of patients of Ukraine and the prevalence of relevant pathologies. The estimated production capacity was 240g of substance rIL-7 per year, and its cost was 43 478UAH. The estimated raw material cost of the ready-to-use injection form of the drug rIL-7 (3-60μg per dose) is 38-1512UAH, which determines its social accessibility for the population of Ukraine.

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. Ружинська Людмила Іванівна
2. Rhuzinska Ludmila I.

Кваліфікація: к.т.н., 05.05.13

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. Галкін Олександр Юрійович

2. Galkin Oleksandr Yu.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.20

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. Баль-Прилипко Лариса Вацлавівна

2. Bal-Prylypko Larysa V.

Кваліфікація: д. т. н., 03.00.20

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. Поєдинок Наталіїя Леонідівна

2. Poyedinok Natalia L.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.20

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. Голуб Наталія Борисівна

2. Golub Nataliia B.

Кваліфікація: д. т. н., 03.00.20

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. Щурська Катерина Олександрівна

2. Shchurska Kateryna Oleksandrivna

Кваліфікація: к. т. н., 03.00.20

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 Тодосійчук Тетяна Сергіївна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Тодосійчук Тетяна Сергіївна

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності Юрченко Т.А.