

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0412U006365

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 11-12-2012

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Демків Ольга Михайлівна

2. Demkiv Olha Myhaylivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат 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: 28-11-2012

Спеціальність за освітою: 8.04010202

Місце роботи здобувача: Інститут біології клітини НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: 79005, м.Львів, вул.Драгоманова 14/16

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): Д 35.246.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: Драгоманова 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 НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: 79005, м.Львів, вул.Драгоманова 14/16

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.27.05, 62.13.41

Тема дисертації:

1. Формальдегіддегідрогеназа рекомбінантних штамів *Hansenula polymorpha*: оптимізація синтезу, очистка та використання у біосенсорному та ензиматичному аналізі формальдегіду
2. Formaldehyde dehydrogenase of recombinant strains *Hansenula polymorpha*: optimization of synthesis, purification and application in biosensor's and enzymatic assay of formaldehyde

Реферат:

1. Об'єкт дослідження: детоксикація формальдегіду (ФА) рекомбінантними формальдегідо-резистентними штамми дріжджів *H. polymorpha* та розробка методів аналізу вмісту ФА за допомогою формальдегіддегідрогенази (ФдДГ). Мета роботи: здійснити скринінг рекомбінантних штамів дріжджів *H. polymorpha* - надпродуцентів NAD⁺- глутатіон-залежної ФдДГ; дослідити особливості регуляції синтезу фермента факторами середовища за умов високого вмісту формальдегіду (ФА); розробити простий метод виділення та очистки фермента і створити на його основі нові біоаналітичні методи визначення вмісту ФА. Методи дослідження: мікробіологічні, генетичні, біохімічні та математичної статистики. Здійснено скринінг низки природних та рекомбінантних штамів дріжджів *H. polymorpha* та вперше отримано стабільний надпродуцент ФдДГ, який володіє підвищеною резистентністю до ФА (до 15 мМ). Охарактеризовано закономірності синтезу ФдДГ та інших ферментів катаболізму ФА та оптимізовано умови для максимального

виходу ФдДГ. Виявлено, що за високих концентрацій екзогенного ФА у середовищах із різними джерелами вуглецю підвищується активність ФдДГ. Результати, наведені в роботі, дозволяють глибше зрозуміти механізми детоксикації ФА в метилотрофних дріжджів, особливо за умов високого вмісту ФА в середовищі. Отримання рекомбінантних штамів *H. polymorpha*, резистентних до ФА, надало можливість дослідити адаптаційну здатність клітин до високих концентрацій ФА та дозволило розробити лабораторний прототип клітинного біореактора для усунення цієї токсичної речовини з повітря та рідин. Вперше розроблено схему виділення і очистки ФдДГ із клітин трансформанта *H. polymorpha* та сконструйовано безреагентний амперометричний біосенсор із використанням ФдДГ. Розроблений ензиматично-фотометричний метод визначення ФА у стічних водах, може бути рекомендованим для розроблення державного стандарту аналізу ФА та відповідного комерційного біоаналітичного набору. Сконструйований селективний лабораторний прототип амперометричного біосенсора використано для розробки експериментального зразка формальдегідного аналізатора. Представлені в роботі методи визначення вмісту ФА можуть бути застосовані в практиці - в лабораторіях екологічного та санітарно-епідеміологічного контролю, заводських, клініко-діагностичних та науково-дослідних лабораторіях. Сфери використання: мікробіологія, біохімія,

2. Object of the research: formaldehyde detoxification with recombinant yeast strains *H. polymorpha*, resistant to elevated formaldehyde (FA) concentrations, and development of enzymatic methods for FA assay based on formaldehyde dehydrogenase (FdDH). The aim of the work: to screen the gene-engineered strains of the yeast *H. polymorpha* - over-producers of NAD⁺- and glutathione-dependent FdDH; to study the details of regulation of FdDH productivity in yeast cells under different cultivation conditions at elevated FA content; to develop the simple scheme for FdDH isolation and purification; to create the new methods FdDH-based for FA testing. Methods: microbiological, genetic, biochemical, mathematical statistics. The number of wild and gene-engineered strains of yeast *H. polymorpha* were screened and the stable recombinant strain - over-producer of FdDH, possessing elevated resistance to FA (up to 15 mM), was chosen at the first time. The details of FdDH synthesis and other's enzymes of FA catabolism in recombinant strains were studied and cultivation conditions for maximal FdDH yield were optimized. It was shown that FdDH activity is dependent on the carbon source and FA content in cultural medium, FA is an inducer of FdDH synthesis. The described results lead us to understanding the detailed mechanisms of FA detoxification in methylotrophic yeast, especially at high content of FA in growth medium. The recombinant strains *H. polymorpha*, being resistant to FA, were used as model to investigate adaptation ability of cells to live under elevated FA levels. Then, these recombinants were used as a FA-oxidizing cartridge in bioreactor for biodegradation of FA in air and liquid. The simple scheme for FdDH isolation and purification from the gene-engineered strain *H. polymorpha* was firstly proposed and the FdDH-based reagentless biosensor to monitor FA was constructed. FdDH was used for the development of enzymatic spectrophotometric assay of FA in water wastes. This method can be recommended for the development of state standard of FA analyses and the corresponding commercial analytical test-kit. Fabricated laboratory prototype of biosensor was used for construction of experimental sample of FA analyser. The methods of FA assay, described in this study, may be utilized in practice - in laboratories of ecology, sanitary, factories, medico-diagnostics and scientific research. Area of use: microbiology, biochemistry.

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. Гончар Михайло Васильович

2. Gonchar Mykhailo

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. Солдаткін Олексій Петрович

2. Солдаткін Олексій Петрович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.20, 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:

