

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Смутка Олега Володимировича «L- і D-лактат-селективні оксидоредуктази, рекомбінантні клітини дріжджів *Ogataea polymorpha* та нанорозмірні матеріали для розробки нових ензиматичних і біосенсорних підходів кількісного аналізу молочної кислоти», представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія

Актуальність дисертаційної роботи Смутка Олега Володимировича обґрунтована практичною необхідністю в інтенсивній терапії і хірургії визначення вмісту лактату для оцінки стану пацієнта, оскільки підвищення рівня лактату у крові є основним індикатором ішемічного стану, причинами якого можуть бути різні типи шоку, серцева недостатність, гіпоксія, отруєння монооксидом вуглецю, а у спортивній медицині аналіз L-лактату дозволяє визначити пороговий фізіологічний рівень підготовки спортсмена і підібрати оптимальні режими навантаження.

Дисертант поставив **за мету** своєї роботи "з'ясувати потенціал поєднання генно-інженерних підходів і нанотехнологій для створення нових селективних біоаналітичних методів кількісного аналізу L- та D-молочної кислоти, придатних для використання у клінічній діагностиці, фармацевтиці, спортивній медицині та харчових технологіях".

Об'єктом дослідження дисертант визначив надпродуценти термостабільної форми флавоцитохрому b_2 (ФЦ b_2) та D-лактат:ферицитохром c-редуктаза (DLDH) *Ogataea polymorpha*, ферментні препарати L- і D-селективних оксидоредуктаз, нанорозмірні ензимні матеріали, їх структурні та фізико-хімічні властивості.

Предмет дослідження: гени *O. polymorpha*, що визначають надпродукцію ФЦ b_2 та DLDH, регуляція синтезу ферментів, створення біореакторів для конверсії L- та D-лактату, конструювання ензиматичних та біосенсорних аналітичних підходів визначення вмісту L- та D-лактату.

Наукова новизна отриманих результатів не викликає сумнівів, проте викладена занадто розлого і детально. Потрібно було сформулювати та навести основні положення, які виносяться на захист.

Так, дисертантом уперше сконструйовано рекомбінантні штами дріжджів *O. polymorpha*: надпродуцент ФЦ b_2 «tr1», що характеризується восьмикратним підвищенням питомої активності відповідного ферменту, та штам *O. polymorpha* «tr6» – продуцент DLDH, який не виявляє активності ФЦ b_2 , водночас, володіє шестикратною питомою активністю DLDH, порівняно з вихідними батьківськими штамами. Уперше запропоновано використати амінопропілсилохром, модифікований цитохромом c в ролі ліганда, як носій афінної хроматографії для очищення ФЦ b_2 . Розроблено схему очищення DLDH із клітин штаму *O. polymorpha* «tr6». Уперше розроблено новий ензиматично-фотометричний метод кількісного аналізу L-лактату. Опрацьовано новий ензиматично-фотометричний метод аналізу D-лактату на основі використання клітин та субклітинних фракцій *O. polymorpha* «tr6» та утворення формагану. Уперше використано поєднання гене-

тичної інженерії та нанотехнологій при формуванні клітинного біоселективного елементу амперометричного біосенсора на L-лактат. Показано, що збагачення клітин *O. polymorpha* ФЦ b_2 за рахунок надекспресії відповідного гена та додаткового введення в клітини золотих наночастинок з іммобілізованим ферментом суттєво покращує основні операційні характеристики біосенсора. Вперше розроблено та охарактеризовано нові мікробні біосенсори на D-лактат з використанням клітинних уламків, субклітинної фракції, збагаченої мітохондріями, та клітин рекомбінантного штаму *O. polymorpha* «trb». Завдяки делеції гена *CYB2*, кодуєчого L-лактат-селективний флавоцитохром b_2 , показано, що створені мікробні біосенсори характеризуються високою селективністю до D-енантіомера лактату.

Практичне значення одержаних результатів. Отримано стабільні штами *O. polymorpha* - продуценти термостабільного ФЦ b_2 і DLDH та очищені препарати відповідних ферментів, придатні для біоаналітичного використання. Опрацьовано нові ензиматично-фотометричні методи та відповідні біоаналітичні набори для визначення вмісту L- та D-лактату; біореактори для біотрансформації енантіомерів лактату, а також прототипи ензимних та мікробних біосенсорів на основі очищених препаратів ферментів, субклітинних фракцій, клітинних уламків та клітин надпродуцентних штамів дріжджів.

Розроблені біоаналітичні підходи на основі рекомбінантних клітин і очищених ферментів та автоматичний прилад «Форматест-2010» використано для кількісного аналізу L- та D-лактату в реальних зразках рідин людини, харчових продуктів та фармацевтичних препаратів трансфузійного призначення. Опрацьовані ензиматичні та мікробні підходи аналізу вмісту лактату можуть знайти практичне використання в клінічній діагностиці, спортивній медицині та харчових технологіях.

Опублікування результатів дисертації. Основні матеріали дисертації в повній мірі відображені та опубліковані дисертантом у 50 наукових працях, включаючи 20 статей у фахових виданнях (16 – у закордонних, з сумарним ім-пакт фактором – 46 та 4 – у вітчизняних виданнях), 5 розділів монографій (4 – у закордонних та 1 – у вітчизняному виданні), 2 патенти (1 – патент США та 1 – патент України на корисну модель), 23 тез доповідей на міжнародних наукових конференціях.

Апробація результатів дисертації. Результати роботи доповідались на численних вітчизняних та міжнародних конференціях: Центральноєвропейському конгресі науки про життя EUROBIOTECH (Krakow, Poland, 2010), I міжнародному симпозиумі “Non-Conventional Yeasts in the Postgenomic Era” (Львів, Україна, 2011), XXVII Міжнародній конференції з генетики та молекулярної біології дріжджів (Levico Terme, Italy, 2015), Міжнародній конференції "Актуальні проблеми клітинної біології та біотехнології" (Львів, Україна, 2015), V з'їзді Українського товариства клітинної біології з міжнародним представництвом (Одеса, Україна, 2016), Міжнародній конференції “Non-conventional Yeasts: from Basic Research to Application” (Rzeszow, Poland, 2018) та інших.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація містить наступні розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати до-

сліджень та їх обговорення», «Узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел». Дисертацію викладено на 298 сторінках, із них основна частина займає 266 сторінок. Робота містить 105 рисунків, 26 таблиць і 247 джерел літератури.

У розділі 1. Огляд літератури викладено метаболізм лактату у дріжджів. Значна увага приділена характеристиці та генетичній регуляції синтезу домінантних ферментів метаболізму лактату у дріжджів – L- та D-лактат: ферицитохром *c*-оксидоредуктаз. Проведено аналіз літератури та порівняно основні характеристики ензиматичних та біосенсорних методів визначення вмісту L- та D-лактату, зокрема, із використанням NAD-залежних лактатдегідрогеназ різного походження та бактерійної лактатоксидази. В цілому цей розділ демонструє добре володіння дисертантом сучасними даними світової літератури з обраної теми дисертації.

У розділі 2. Матеріали і методи досить детально описано широкий спектр застосованих у роботі самих сучасних мікробіологічних, молекулярно-біологічних, імунологічних та фізіолого-біохімічних методів та методів математичної статистики.

Трансформацію дріжджів проводили методом електропорації. При ампліфікації фрагментів ДНК за допомогою ПЛР використовували синтетичні олігонуклеотидні праймери фірм «IDT Technologies» або «Sigma» (США).

У роботі використовувалась база даних *O. polymorpha*. Аналіз нуклеотидної послідовності ДНК проводили за допомогою програм: Oligonucleotide Properties Calculator; NEBcutter V2.0 та пакету програм доступних на сайті мережевого сервісу BLAST Національного центру біотехнологічної інформації (Bethesda, MD, USA).

Іонообмінну хроматографію проводили на колонці з ДЕАЕ–целюлозою (Токіо, Японія). Спектри поглинання розчину знімали на спектрофотометрі Shimadzu (Японія). Для іммобілізації ФЦ *b*₂ методом іонних взаємодій на поверхні золотих наночастинок проводили їх функціоналізацію цистеаміном або використовували комерційні магнітні мікрочастинки на основі оксиду заліза покриті силаном та функціоналізовані аміногрупами.

Амперометричні біосенсиори конструювали на базі трьохелектродної сенсорної конфігурації за допомогою комерційних амперометричних потенціостатів: "EP 30 Biometra", (Геттінген, ФРН), "Autolab" (PGSTAT302, Utrecht, Нідерланди), CHI 1200A (IJ Cambria Scientific Ltd, Порт Барі, Великобританія) або за допомогою експериментальних зразків потенціостатів „Postat-16” та „Biosens”.

Тестування зразків поту та слини людини проводилось за використання експериментального зразка автоматичної аналізаторної системи «Форматест-2010», (ТзОВ „Науково-виробнича фірма „Інженерна Лабораторія” Лтд, Львів).

Імобілізацію ферментів, субклітинних фракцій чи клітин рекомбінантних штамів *O. polymorpha* на поверхні робочих електродів проводили шляхом їх фіксації діалізною мембраною, або електроосадженням в шарі полімерів,

синтезованих в лабораторії аналітичної хімії та електросенсорики Рурського університету (м. Бохум, ФРН).

Сканувальну електронну мікроскопію і рентгеноспектральний аналіз зразків проводили на скануючому електронному мікроскопі „СЕМ-мікроаналізатор РЕММА-102-02” (Суми, Україна). Розмір і структуру часток досліджували на атомно-силовому мікроскопі Р47-PRO (NT-MDT).

Розділ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Глава 3.1. Генно-інженерне конструювання штамів – продуцентів L- та D-лактат:ферицитохром c-оксидоредуктаз на основі дріжджів *O. polymorpha*

У цій главі описано конструювання дисертантом штамів – продуцентів ФЦ b_2 *O. polymorpha* та штамів продуцентів DLDH *O. polymorpha* та оптимізацію скринінгу генетицин-резистентних трансформантів *O. polymorpha* з підвищеною активністю ФЦ b_2 .

Для конструювання штамів *O. polymorpha* – продуцентів ФЦ b_2 використовували штами *O. polymorpha* колекції Інституту біології клітини НАН України.

Відкриту рамку трансляції (BPT) гена *CYB2* *O. polymorpha* разом із термінатором синтезували за допомогою ПЛР, використовуючи відповідні праймери і хромосомну ДНК *O. polymorpha* CBS 4732 як матрицю. Отриманий фрагмент, клонували перед промотором гена *AOX* *O. polymorpha* в вектор рНІРХ2. Касету експресії, клонували у вектор рGLG6. Сконструйована плазміда отримала назву рGLG61_*CYB2*. Плазмиду рGLG61_*CYB2*, сконструйовану на основі вектора рGLG61, трансформували в реципієнтний штам *O. polymorpha* C-105 (*gcr1*, *catX*).

Отримані трансформанти стабілізували культивуванням за неселективних умов протягом десяти-дванадцяти генерацій з подальшим перенесенням на селективне середовище із генетицином. Первинний скринінг генетицин-резистентних трансформантів із підвищеною активністю ФЦ b_2 проводили за допомогою опрацьованого автором методу візуалізації ферментативної активності колоній пермеабілізованих клітин на чашках Петрі.

Питома активність ФЦ b_2 у відібраних трансформантів була більшою до 8,2 раз ніж у вихідного штаму.

Для конструювання дріжджового надпродуцента DLDH батьківський штам *O. polymorpha* позбавляли специфічної L-лактат: цитохром c оксидоредуктазної активності, а гомологічний ген у складі плазмиди для мультикопійної інтеграції, надекспресували в штамі *sub2Δ* під контролем сильного конститутивного промотора гена *AOX*.

Ген *DLD1* *O. polymorpha* з термінаторною ділянкою та промотор гена алкогольоксидази ампліфікували з геномної ДНК штаму *O. polymorpha* NCYC 495 *leu1-1*, використовуючи відповідні пари праймерів. Отриманий фрагмент обробляли ендонуклеазою рестрикції *Bam*HI та клонували у плазмиду рGLG61, внаслідок чого було отримано рекомбінантну плазмиду рGLG61_*DLD1*_Hr.

Рекомбінантна плазміда pGLG61_DLD1_Hr була введена у клітини штаму реципієнта *O. polymorpha* C-105. Трансформанти стабілізували культивуванням в неселективних середовищах, з подальшим перенесенням на селективне середовище.

Питома активність DLDH отриманого штама *sub2Δ/DLD1* була у 6 разів вищою порівняно з вихідними штамами і становила 1,82 Од·мг⁻¹.

Глава 3.2. Оптимізація умов для надсинтезу L- та D-лактат: ферицитохром с-оксидоредуктаз рекомбінантними штамами дріжджів

Для підвищення виходу ферментів здобувачем проведено підбір складу поживних середовищ для сконструйованих штамів з додаванням, метанолу, солей цинку і заліза. Встановлено, що рацемат лактату збільшує активність ферментів ФЦ *b₂* і автор пояснює цей факт індукувальним впливом його на експресію власного ферменту. Показано, що синтез DLDH також зростає при додаванні в середовище рацемата лактату.

Глава 3.3. Оптимізація виділення та очищення L- та D-лактат:ферицитохром с-оксидоредуктаз із клітин рекомбінантних штамів дріжджів *O. polymorpha*

3.3.1. Оптимізація виділення та очищення ФЦ *b₂* з клітин рекомбінантного штаму дріжджів *O. polymorpha* «tr1»

Для афінної очистки ФЦ *b₂* дисертантом синтезовано афінний сорбент на основі амінопропілсилохрому, модифікованого комерційним цитохромом *c* в ролі ліганда.

Модифікацію активованого сорбенту проводили за допомогою цитохрому *c*. Для контролю ступеня модифікації носія, визначали білок цитохрому *c* до і після його зв'язування з носієм. В результаті отримано афінний сорбент, що містив 1,9 мг·мл⁻¹ цитохрому *c*.

Внаслідок афінної хроматографії, отримано очищений препарат ФЦ *b₂* з питомою активністю 10 Од·мг⁻¹. Ступінь очистки цільового фермента від баластних білків характеризували, визначаючи його активність та концентрацію білка в кожній фракції елюату, та за допомогою електрофорезу в ПААГ за денатуруючих умов у присутності SDS.

Очищений препарат фермента представлений чіткою домінуючою зоною з молекулярною масою субодиниць 74 кДа.

3.3.2. Розробка схеми виділення мембранного ферменту DLDH із клітин *O. polymorpha* «tr6» та його очищення

Дріжджі трансформанта «tr6» *O. polymorpha* вирощували в середовищі «Беркгольдера» з додаванням, як джерела Карбону, 1% глюкози та 0,5 % рацемату лактату. Відмиті клітини висушували та проводили їх фізичне руйнування на кульовому млинку скляними кульками Балотіні. Білки фракціонували осадженням охолодженим ацетоном та збирали центрифугуванням. Суспензію отриманого осаду наносили на колонку, заповнену сорбентом DEAE-Toyopearl 650M (TSK-GEL, Японія). Елюцію проводили амоній сульфатом в буфері. Висолювання фе-

рменту проводили додаванням до елюату сухого амоній сульфату. Вихід за активністю фермента після стадії хроматографічної очистки становив приблизно 50%. Найвища питома активність в окремих фракціях зі ступенем очистки 7 разів досягала $1,1 \text{ Од} \cdot \text{мг}^{-1}$.

Отже дисертантом розроблено метод очищення ФЦ b_2 з застосуванням афінною хроматографії, схему очищення DLDH та для обох ферментів описано фізико-хімічну характеристику.

Глава 3.4. Створення лабораторних прототипів біореакторів для конверсії рацемату молочної кислоти до оптично чистого L-ізомера та токсичного D-лактату Отримання D-лактату з рацемату шляхом специфічного окислення L-лактату

Отримання чистих стереоізомерних форм має важливе практичне значення. Дисертантом запропоновано новий ензиматичний підхід отримання чистого стереоізомеру D- та L-лактату із рацемату молочної кислоти шляхом ензиматичної конверсії одного із стереоізомерів специфічними L- або D-лактат:ферицитохром c-оксидоредуктазами.

Для отримання D-стереоізомеру із рацемату молочної кислоти, використано систему, яка містила очищений фермент флавоцитохром b_2 (ФЦ b_2), специфічним субстратом якого є L-лактат. Максимальне окиснення L-лактату було досягнуто при використанні фермента з активністю $1,0 \text{ Од} \cdot \text{мл}^{-1}$ у суміші з 10 mM L,D-рацематом молочної кислоти при pH 7,0 і температурі 37°C .

Запропонований підхід може бути використано як основу для біотехнологічного отримання оптично чистого D-енантіомеру із хімічно синтезованого рацемату D,L-лактату.

Для створення біореактора на основі клітин, здатних до детоксикації D-лактату, використано пермеабілізовані ліофілізовані клітини штаму *O. polymorpha* «tr6». Для конструювання біореактора, пермеабілізовані дріжджові клітини іммобілізували в кальцій-альгінатному гелі, формуючи біофункціоналізовані альгінатні кульки, які поміщали на колонку. Залишковий D-лактат в процесі визначали хімічним методом Бюхнера.

Після етапу оптимізації і удосконалення, розроблений прототип біореактора може бути апробований в пілотному режимі для усунення D-лактату в ферментованих харчових продуктах.

Глава 3.5. Створення нових ензиматично-спектрофотометричних методів аналізу L- та D -лактату на основі L- та D -лактат:ферицитохром c-оксидоредуктаз рекомбінантних штамів *O. polymorpha*

Дисертантом уперше розроблено новий ензиматично-фотометричний метод кількісного аналізу L-лактату за використання рекомбінантного ФЦ b_2 з утворенням «Берлінської блакиті». Опрацьовано спосіб реутилізації фермента для визначення вмісту L-лактату за використання ФЦ b_2 , іммобілізованого на магнітних мікрочастинках.

Розроблено новий фотометричний метод аналізу D-лактату на основі використання клітин та субклітинних фракцій дріжджів *O. polymorpha* «trb» та утворення формазану як кінцевого кольорового продукту.

Глава 3.6. Створення амперометричних біосенсорів для аналізу лактату

У цій главі описано створення лабораторних прототипів амперометричних біосенсорів для кількісного визначення L- та D -лактату з використанням рекомбінантних джерел ФЦ b_2 та DLDH *O. polymorpha*. Дисертантом опрацьовано різні варіанти підходів з точки зору оптимізації перенесення електронів із відновленої форми ФЦ b_2 та DLDH на кінцевий акцептор, підбору оптимальних умов проведення аналізу і забезпечення максимальної селективності, стабільності та точності результатів.

У підглаві 3.6.1. наведено результати конструювання амперометричних мікробних біосенсорів для визначення L- та D -лактату з використанням рекомбінантних клітин *O. polymorpha*, зокрема:

- розробку мікробних біосенсорів на L-лактат з використанням рекомбінантних клітин *O. polymorpha* «tr1» та електроосадженого полімера,
- конструювання безмедіаторного мікробного біосенсора для аналізу L-лактату на основі клітин *O. polymorpha* «tr1»,
- конструювання та оптимізацію мікробних біосенсорів на D –лактат на основі клітинних уламків *O. polymorpha* «trb» та електроосаджуваних полімерів,
- конструювання мікробних біосенсорів на D –лактат на основі пермеалізованих клітин та субклітинних фракцій *O. polymorpha* «trb», збагачених мітохондріями і вільно проникаючих медіаторів електронного перенесення,
- розробку мікробних біосенсорів на L-лактат з використанням рекомбінантних клітин *O. polymorpha* «tr1» і біфункціональних наночастинок золота,
- використання очищених препаратів ФЦ b_2 для розробки нових методів амперометричного аналізу,
- конструювання безмедіаторних ензимних біосенсорів на L-лактат на основі ФЦ b_2 та наночастинок золота, іммобілізованих на графітних електродах,
- створення прототипу L-лактат-селективного біосенсора "третього покоління" на основі ФЦ b_2 , іммобілізованого на поверхні золотого електроду, модифікованого наночастинами золота,
- вивчення неінвазійного сенсорного моніторингу вмісту лактату в біологічних рідинах людини за допомогою прототипу лактат-селективного біосенсора "третього покоління".

В Узагальненні результатів досліджень дисертант аналізує та показує переваги розробленого амперометричного сенсора "третього покоління" для кількісного аналізу L-лактату, який переважає комерційні аналоги за чутливістю коротшим терміном аналізу та мікробних біосенсорів на основі рекомбінантного штаму *O. polymorpha* «trb» на D -лактат, які у порівнянні з комерційним аналогом характеризуються нижчою межею виявлення D -лактату та значно більш чутливим.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, сформульованих у

дисертації підтверджені результатами досліджень з використанням значної кількості сучасних молекулярно-біологічних, фізичних, мікробіологічних методів досліджень та не викликають сумнівів.

Викладені результати досліджень та сформульовані висновки в цілому не викликають заперечень, але разом з тим є деякі зауваження, більшість з яких носить редакційний характер:

1. Назва дисертації занадто деталізована і, як наслідок, тому громізка.
2. Не чітко сформульована мета роботи: «з'ясування потенціалу поєднання генно-інженерних підходів та нанотехнологій для створення нових селективних біоаналітичних методів кількісного аналізу L- та D-молочної кислоти». Мета роботи повинна бути чітка і конкретна. Наприклад: «Розробити нові ензиматичні підходи та біосенсиори кількісного аналізу молочної кислоти на основі оксидоредуктаз та рекомбінантних клітин дріжджів *Ogataea polymorpha*».
3. Не зрозуміло як виконати завдання: «дослідити можливість використання магнітних мікрочастинок ...», або «дослідити можливість використання препаратів ...»?
4. Структура автореферату не зовсім відповідає структурі самої дисертації. В авторефераті дещо змінені назви та не позначені номери глав і підглав.
5. Глава 3.2. називається "*Оптимізація умов для надсинтезу L- та D-лактат: ферицитохром c-оксидоредуктаз рекомбінантними штамми дріжджів*", хоча в роботі здійснювали *підбір складу культурального середовища*, як це вірно вказано дисертантом при формулюванні наукової новизни.
6. При виборі умов культивування дріжджів *O. polymorpha* як показник важливо було визначати загальну продукцію фермента ($\text{Од}\cdot\text{мл}^{-1}$), а не питому активність досліджуваного фермента ($\text{Од}\cdot\text{мг}^{-1}$). Хоча в преамбулі глави 3.2. правильно вказано, що метою оптимізації умов синтезу оксидоредуктаз дріжджами є забезпечення максимальної продукції цих ферментів.
7. Необхідно зауважити, що штам культивувати не можна, так само як і вид. Це абстрактна категорія. Так само не можна вирощувати породу тварин, або сорт рослин. Для прикладу: "Рис.3.6. Профіль активності ФЦ b_2 у безклітинних екстрактах вихідного штаму в динаміці росту дріжджів", "культивування штаму дріжджів ..." і таке інше.

Наведені зауваження несуть переважно редакційний характер та не є такими, що знижують загальну високу оцінку дисертації, яка є завершеною самостійною науковою працею. Оцінюючи дисертаційну роботу Смутка Олега Володимировича в цілому, слід зазначити, що ним отримано результати, які мають важливе практичне значення в медицині для визначення вмісту лактату для оцінки стану пацієнтів, а також у спортивній медицині.

Дисертація виконана на високому методичному рівні і є завершеним науковим дослідженням. Сукупність отриманих у дисертації результатів являє практичний інтерес для мікробіологів та біотехнологів, що займаються створенням принципово нових біологічних сенсорів на основі мікроорганізмів.

Отже, дисертаційна робота Смутка Олега Володимировича "L- і D-лактат-селективні оксидоредуктази, рекомбінантні клітини дріжджів *Ogataea polymorpha* та нанорозмірні матеріали для розробки нових ензиматичних і біо-сенсорних підходів кількісного аналізу молочної кислоти", представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія за актуальністю, обсягом і змістом проведених досліджень, за науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів відповідає вимогам п. 10 та 12 «Положення про порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія.

Доктор біологічних наук,
професор кафедри мікробіології,
вірусології та біотехнології, проректор
Одеського національного університету
імені І.І. Мечникова



В. О. Іваниця