

ЗАТВЕРДЖУЮ

Заступник директора Інституту біології клітини
НАН України з наукової роботи
д.б.н., член-кор. НАН України



Костянтин ДМИТРУК
"25" лютого 2025 р.

ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів
дисертації ЛЮ Вена (LIU Wen) на тему:**

**«Нові дані щодо ролі *GND1*, *RIB6*, *RFE1* та деяких інших генів у
надсинтезі рибофлавіну дріжджами *Candida famata*» («New findings on the
role of *GND1*, *RIB6*, *RFE1* and some other genes on riboflavin oversynthesis
of the yeast *Candida famata*»), поданої на здобуття ступеня доктора**

філософії з галузі знань 09 – Біологія

за спеціальністю 091 – Біологія

наукового семінару відділу аналітичної біотехнології

та відділу молекулярної генетики та біотехнології

Інституту біології клітини НАН України

від 17 лютого 2025 року

Дисертаційна робота виконана у відділі молекулярної генетики та
біотехнології Інституту біології клітини НАН України,

назва відділу, назва установи

науковий керівник доктор біологічних наук, професор, академік НАН України,
директор, завідувач відділу молекулярної генетики і біотехнології Інституту
біології клітини НАН України, Сибірний Андрій Андрійович.

науковий ступінь, вчене звання, посада, прізвище, ініціали.

1. Актуальність теми дослідження

Рибофлавін (вітамін В2) є незамінним для росту та здоров'я людини і тварин, оскільки вони не здатні самостійно синтезувати цей вітамін у достатній кількості. Флавінові коензими, що утворюються з рибофлавіну, беруть участь у численних ферментативних реакціях окисного метаболізму, що зумовлює його важливість для біологічних систем.

Глобальний ринок рибофлавіну демонструє стійку тенденцію до зростання, що зумовлено його широким застосуванням у харчовій та фармацевтичній промисловості, а також як кормової добавки для тварин. Очікується, що до 2031 року обсяг ринку рибофлавіну досягне 23,34 млрд доларів США, що свідчить про високу комерційну значущість цього продукту.

Мікробний синтез рибофлавіну має значні переваги над хімічним методом його отримання, включаючи нижчу собівартість, коротший

виробничий цикл та використання відновлюваних ресурсів. У сучасному промисловому виробництві рибофлавіну використовують бактерії *Bacillus subtilis* та гриби *Ashbya gossypii*. При цьому *Candida famata* є перспективним продуцентом, оскільки менш чутлива до бактеріофагів, має короткий період ферментації та здатна рости на різних субстратах, зокрема на відходах харчової промисловості та лігноцелюлозних гідролізатах.

Дослідження регуляторних механізмів біосинтезу рибофлавіну у *C. famata* відкриває можливості для раціонального конструювання високопродуктивних промислових штамів. Останні досягнення в галузі метаболічної інженерії дозволяють значно підвищити ефективність його синтезу шляхом модифікації ключових метаболічних шляхів.

Результати дисертаційного дослідження спрямовані на вдосконалення штамів *C. famata* та оптимізацію біотехнологічного процесу отримання рибофлавіну, що сприятиме створенню конкурентоспроможних технологій для промислового виробництва цього вітаміну.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Представлена робота виконана як частина фундаментальних досліджень у відділі молекулярної генетики та біотехнології Інституту біології клітини НАН України за темами: «Генетичний контроль біосинтезу та транспорту рибофлавіну у флавіногенних дріжджів» (№ держ. реєстрації 0115U001362, 2015 – 2019); «Генетичні та біохімічні аспекти регуляції деяких катаболічних та анаболічних процесів у мікроорганізмів: алкогольної ферментації, катаболізму метанолу, біосинтезу флавінів, гліцерину, водню та глутатіону» (Рішення Експертної ради з питань оцінювання тем фундаментальних науково-дослідних робіт при НАН України від 17.06.2015 № 3, 2016-2019); «Вивчення механізму дії нових генів в регуляції синтезу рибофлавіну у флавіногенних дріжджів *Candida famata*» (Постанова Бюро ВБФМБ НАН України від 02.10.2018 № 5, № держ. реєстрації 0119U001677, 2019-2020)); «Ідентифікація та з'ясування ролі нових структурних та регуляторних генів у надсинтезі рибофлавіну у флавіногенних дріжджів» (Постанова Бюро ВБФМБ НАН України від 26.11.2020 № 4, № держ. реєстрації 0121U10926, 2021-2025); гранту від Польського національного наукового центру Opus UMO-2018/29/B/NZ1/01-497 – «Regulatory mechanism involved in riboflavin overproduction in the flavinogenic yeast *Candida famata*».

3. Наукова новизна отриманих результатів

У дисертаційній роботі вперше показано, що одночасна надекспресія генів *GND1*, *RIB6* (що кодує 3,4-дигідрокси-2-бутанон 4-фосфат-синтазу, відповідальну за конверсію Ru5P), та *RFE1* (що кодує білок, залучений у експорт рибофлавіну) забезпечує 3,3-кратне підвищення продуктивності рибофлавіну у штамі *C. famata* VKM Y-9.

Досліджено роль рибулозо-5-фосфату (Ru5P), одного з ключових попередників біосинтезу рибофлавіну, у дріжджах *C. famata*. На основі аналізу оксидативної гілки пентозофосфатного шляху встановлено, що надекспресія

гена *GND1* сприяє підвищенню рівня біосинтезу рибофлавіну, тоді як надекспресія *ZWF1* негативно впливає на продукцію вітаміну та ріст клітин.

Окрім факторів безпосередньо біосинтетичного шляху, досліджено механізми регуляції рибофлавінового метаболізму. Встановлено, що експресія гена *SEF1* (що кодує транскрипційний фактор Sef1) виключно під контролем промоторів флавіногенних дріжджів сприяє підвищенню продукції рибофлавіну. Також доведено, що ген *VMA1* (що кодує α -субодиницю вакуолярної АТФази) відіграє роль негативного регулятора біосинтезу рибофлавіну у *S. famata*.

Отримані результати значно розширюють знання про механізми регуляції біосинтезу рибофлавіну та відкривають нові підходи до створення високопродуктивних промислових штамів *S. famata*.

4. Теоретичне та практичне значення результатів дисертації

Виявлені гени та фактори біосинтезу рибофлавіну можуть бути використані для створення нових високоефективних продуцентів на основі удосконаленого штаму BRPI за допомогою комбінування та модифікації їхньої експресії. Отримані штами характеризуються стабільністю та конкурентоспроможністю як надпродуценти рибофлавіну, що відкриває можливість їхнього впровадження у промислове виробництво.

5. Використання результатів роботи

Отримані результати можуть слугувати теоретичною основою для підготовки фахівців у галузі мікробних біотехнологій, та практичною основою для подальшої оптимізації продуцентів рибофлавіну.

6. Особиста участь автора в отриманні наукових та практичних результатів, що викладені в дисертаційній роботі

Дисертація є самостійною науковою працею, в якій висвітлені власні ідеї і розробки автора, що дозволили вирішити поставлені завдання. Аспірант спільно з науковим керівником розробив план дослідження для виконання визначених завдань. Здобувач здійснив пошук методів та методик для досягнення поставленої мети дослідження. Спільно із науковим керівником здобувач проаналізував результати експериментальних досліджень та підготували наукові публікації на їх основі. Основну дослідну роботу провів аспірант.

7. Перелік публікацій за темою дисертації із зазначенням особистого внеску здобувача.

За результатами досліджень опубліковано 11 наукових праць, у тому числі 4 статті у наукових фахових виданнях, що входять до WoS або Scopus), 7 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій.

Список опублікованих праць за темою дисертації:

Статті у виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core або Scopus:

1. **Liu, W.**, Tsyurulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Kang, Y., and Sibirny, A. (2025). Co-overexpression of genes *RFE1*, *GND1*, and *RIB6* enhances riboflavin production in yeast *Candida famata*. *Cytology and Genetics*, 59(1), 63–70. <https://doi.org/10.3103/S0095452725010074>. Q4, Scopus and WoS. (The author, together with co-authors, conducted research, analyzed and summarized the obtained data, took part in the writing, and design of the publication).
2. Ruchala, J., Andreieva, Y., Tsyurulnyk, A., Sobchuk, S., Najdecka, A., **Liu, W.**, Kang, Y., Dmytruk, O., Dmytruk, K., Fedorovych, D., and Sibirny, A. (2022). Cheese whey supports high riboflavin synthesis by the engineered strains of the lacticogenic yeast *Candida famata*. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 161–169. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01888-0>. Q1, Scopus and WoS. (The author, together with co-authors, conducted research, analyzed and summarized the obtained data, took part in the writing, and design of the publication).
3. Andreieva, Y., Petrovska, Y., Lyzak, O., **Liu, W.**, Kang, Y., Dmytruk, K., and Sibirny, A. (2020). Role of the regulatory genes *SEF1*, *VMA1* and *SFU1* in riboflavin synthesis in the flavinogenic yeast *Candida famata* (*Candida flareri*). *Yeast*, 37(9–10), 497–504. <https://doi.org/10.1002/yea.3503>. Q2, Scopus and WoS. (The author, together with co-authors, conducted research, analyzed and summarized the obtained data, took part in the writing, and design of the publication).
4. Andreieva, Y., Lyzak, O., **Liu, W.**, Kang, Y., Dmytruk, K., and Sibirny, A. (2020). *SEF1* and *VMA1* genes regulate riboflavin biosynthesis in the flavinogenic yeast *Candida famata*. *Cytology and Genetics*, 54(5), 379–385. <https://doi.org/10.3103/s0095452720050023>. Q4, Scopus and WoS. (The author, together with co-authors, conducted research, analyzed and summarized the obtained data, took part in the writing, and design of the publication).

Тези доповідей в збірниках матеріалів конференцій:

5. **Liu, W.** Exploration of Role of Overexpressed Genes *ZWF1* and *GND1* in Riboflavin Synthesis by *Candida famata* (*Candida flareri*) // 1st International Conference of Young Scientists of the Institute of Cell Biology and the University of Rzeszów "Current Issues in Cell Biology and Biotechnology", June 02, Lviv, Ukraine. – 2021. – P. 25.
6. **Liu, W.** Role of the pentose phosphate pathway in riboflavin oversynthesis of the flavinogenic yeast *Candida famata* (*Candida flareri*) // Conference of Young Scientists of Institute of Cell Biology, June 08, Lviv, Ukraine. – 2021. – P. 21.
7. Andreieva, Y., **Liu, W.**, Dmytruk, K., Sibirny, A. Evaluation of the effect of overexpressed genes *ZWF1* and *GND1* on riboflavin synthesis by flavinogenic yeast *Candida famata* (*Candida flareri*) // 8th International Conference "Human – Nutrition – Environment", October 13-14, Rzeszow, Poland. – 2021. – P. 66.

8. **Liu, W.**, Tsyurulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Sibirny, A. Development of platform for constructing of riboflavin overproducers based on the flavinogenic yeast *Candida famata* // XX International Scientific Conference for Students and PhD Students "Youth and Progress of Biology", April 18-20, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 183-184.

9. **Liu, W.**, Tsyurulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Sibirny, A. Combination of using positive regulator genes for riboflavin overproduction in the flavinogenic yeast *Candida famata* // Conference of Young Scientists of Institute of Cell Biology, May 20, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 2.

10. **Liu, W.**, Tsyurulnyk, A., Dmytruk, K., Fedorovych, D., Sibirny, A. Construction of riboflavin overproducers by introduction of genes *RFE1*, *RIB6*, and *GND1* into the yeast *Candida famata* // 7th Congress for All-Ukrainian Public Organization Ukrainian Society of Cell Biology with International Representation, September 11-13, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 105.

11. Fedorovych, D., Tsyurulnyk, A., Dzanajeva L., **Liu, W.**, Ruchala, J., Wojdyla D., Dmytruk, K., Sibirny, A. *Candida famata* cell factory for production of vitamin B₂ // 7th Congress for All-Ukrainian Public Organization Ukrainian Society of Cell Biology with International Representation, September 11-13, Lviv, Ukraine. – 2024. – P. 93.

8. Розглянувши звіт подібності щодо перевірки на плагіат, рецензенти дійшли висновку, що дисертаційна робота **ЛЮ Вена (LIU Wen)** є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів плагіату та запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Робота містить теоретичні та методичні положення і висновки, сформульовані дисертантом особисто. Дисертація характеризується єдністю змісту та відповідає вимогам щодо її оформлення.

9. Структура та обсяг дисертації

Дисертація містить наступні розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати», «Обговорення результатів», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додаток». Дисертацію викладено на 159 сторінках. Робота містить 34 рисунки, 4 таблиці, 1 формулу. Список використаної літератури включає 202 літературних джерела.

10. Оцінка мови та стилю дисертації. Дисертація виконана англійською мовою, текстове подання матеріалу відповідає стилю науково-дослідної літератури. Дисертація за структурою, мовою та стилем викладення відповідає вимогам МОН України.

У результаті попередньої експертизи дисертації **ЛЮ Вена (LIU Wen)** на тему: **«Нові дані щодо ролі *GND1*, *RIB6*, *RFE1* та деяких інших генів у надсинтезі рибофлавіну дріжджами *Candida famata*»** (**«New findings on the role of *GND1*, *RIB6*, *RFE1* and some other genes on riboflavin oversynthesis of**

the yeast *Candida famata*») і повноти публікації основних результатів дослідження

УХВАЛЕНО:

1. Констатувати, що дисертаційна робота ЛЮ Вена (LIU Wen) на тему: «Нові дані щодо ролі *GND1*, *RIB6*, *RFE1* та деяких інших генів у надсинтезі рибофлавіну дріжджами *Candida famata*» («New findings on the role of *GND1*, *RIB6*, *RFE1* and some other genes on riboflavin oversynthesis of the yeast *Candida famata*»), яка подана на здобуття ступеня доктора філософії, за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, ступенем наукової новизни, обґрунтованістю, змістом та оформленням повністю відповідає вимогам «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 р. № 261, пп. 6, 7, 8 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, вимогам наказу МОН України №40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та відповідає напрямку наукового дослідження освітньо-наукової програми Інституту біології клітини НАН України з галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності 091 – Біологія.

2. Рекомендувати дисертацію ЛЮ Вена (LIU Wen) на тему: «Нові дані щодо ролі *GND1*, *RIB6*, *RFE1* та деяких інших генів у надсинтезі рибофлавіну дріжджами *Candida famata*» («New findings on the role of *GND1*, *RIB6*, *RFE1* and some other genes on riboflavin oversynthesis of the yeast *Candida famata*») до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у разовій спеціалізованій вченій раді з галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності 091 – Біологія.

3. Рекомендувати Вченій раді Інституту біології клітини НАН України відповідно до п.15 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 затвердити такий склад разової спеціалізованої вченої ради:

Голова ради:

Стасюк Наталія Євгенівна, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу аналітичної біотехнології, заступник директора з наукової роботи, Інститут біології клітини НАН України.

Рецензенти:

Демків Ольга Михайлівна, кандидат біологічних наук, науковий співробітник відділу аналітичної біотехнології, Інститут біології клітини НАН України.

Закальський Андрій Євстахович, кандидат біологічних наук, доцент, науковий співробітник відділу аналітичної біотехнології, Інститут біології клітини НАН України.

Офіційні опоненти:

Осташ Богдан Омелянович, доктор біологічних наук, професор, головний науковий співробітник кафедри генетики та біотехнології, професор кафедри генетики та біотехнології, Львівський національний університет імені Івана Франка.

Шульга Сергій Михайлович, доктор біологічних наук, професор, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії промислової та харчової біотехнології відділу геноміки і молекулярної біотехнології, заступник директора з наукової роботи ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України».

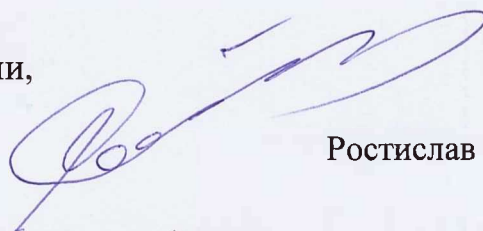
За затвердження висновку проголосували:

«за» – сімнадцять осіб,

«проти» – немає,

«утримались» – немає.

Головуючий на науковому семінарі,
д.б.н., професор, член-кор. НАН України,
зав. відділу регуляції
проліферації клітин і апоптозу



Ростислав СТОЙКА

Рецензенти

к.б.н., науковий співробітник
відділу аналітичної біотехнології



Ольга ДЕМКІВ

к.б.н., доцент, науковий співробітник
відділу аналітичної біотехнології



Андрій ЗАКАЛЬСЬКИЙ

Відповідальна особа за атестацію PhD

і забезпечення діяльності спеціалізованих вчених рад
з присудження ступенів доктора філософії,
к.б.н.



Наталія ФІНЮК

"25" лютого 2025 р.

Підписи Соловйов Р.,
Демків О,
Закальського А.,
Фініук Н.
Засвідчує



Учений секретар

252515758 НАН України, к.б.н.



Барська М.Л.