

РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента кандидата біологічних наук Козак Марії Романівни, в.о. завідувача лабораторії молекулярної біології та генетики Інституту біології тварин НААН, на дисертаційну роботу **МУШИНСЬКОЇ ВІКТОРІЇ СТАНІСЛАВІВНИ** на тему **«ГЕНОМНА ТА ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОБІОТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ШТАМУ ENTEROCOCCUS SP. SB12»** на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія», що подана в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.013 Інституту біології тварин НААН.

1. Актуальність теми дисертаційного дослідження.

Мікроорганізми (бактерії мікробіоти) відіграють важливу роль у підтримці гомеостазу людини та тварин, забезпечуючи метаболізм речовин, синтез вітамінів, захист від патогенів та стимулюють розвиток імунної системи. Водночас, ентерококи володіють природною та набутою стійкістю, і здатні передавати гени резистентності іншим мікроорганізмам, що робить їх серйозною потенційною загрозою. Отже, актуальність даної наукової роботи зумовлена глобальними викликами сучасності: зростанням стійкості мікроорганізмів до антимікробних засобів, потребою у нових біотехнологіях та підвищенню здоров'я людини та тварин. Комплексний геномний та функціональний аналіз штамів-кандидатів перед їх можливим практичним використанням є надзвичайно цінним і правильним підходом. Актуальність виконаної наукової роботи є безсумнівною.

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

Дисертаційна робота виконувалась у лабораторії біотехнології відтворення Інституту біології тварин НААН в рамках науково-дослідних робіт 43.00.02.10.П «Дослідити пробіотичний потенціал нового штаму бактерій *Enterococcus* sp. SB12 для підвищення адаптаційної здатності тварин до впливу кліматичних чинників» (номер державної реєстрації – 0124U001989) та 27.00.02.01 Ф «Молекулярно-генетичні основи використання біотехнологічних платформ антимікробної дії як альтернатива антибіотикам у тваринництві» (номер державної реєстрації – 0126U002014). Частину досліджень виконано в лабораторії кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка, а також завдяки грантам UASEEDs_P3_CoD10_12 «Biotechnological preparations - an alternative to antibiotics in animal husbandry» from Seeds of Bravery (UASEEDs)

funded by the European Union under the European Innovation Council (EIC) та FEMS (Application ID 5385) за проектом «Ідентифікація та характеристика бактеріоцинів штаму *Enterococcus sp.* SB12 з антимікробним потенціалом».

3. Ступінь обґрунтування основних положень і висновків сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Висновки сформульовані на основі одержаних результатів є обґрунтованими та достовірними. У науковій роботі використано сучасні методи досліджень, проаналізовано великий обсяг даних, одержано вагомі результатами, що доводять можливість практичного застосування дослідженого штаму *Enterococcus sp.* Sb12. Апробація роботи на наукових конференціях, публікації результатів у фахових виданнях, що відносяться до науково метричних баз Scopus та одержані дисертанткою міжнародні гранти доводять високий ступінь обґрунтування та достовірність положень дисертації.

4. Відсутність порушень академічної доброчесності.

Відповідно до висновку комісії з питань академічної доброчесності та етики в Інституті біології тварин НААН, унікальність дисертаційної роботи Мушинської В. С. на тему «Геномна та функціональна характеристика пробіотичного потенціалу штаму *Enterococcus sp.* SB12» становить 98,34 %, що доводить відсутність порушень академічної доброчесності.

5. Наукова новизна досліджень та отриманих результатів.

Новий штам *Enterococcus sp.* SB12 виділено з традиційної карпатської бринзи. Вперше комплексно охарактеризовано повний геном виділеного штаму та оцінено його біологічну дію *in vivo* у мишей. Встановлено наявність п'яти кластерів генів бактеріоцинів, виключно хромосомну локалізацію генів стійкості до антимікробних сполук, філогенетичну спорідненість виділеного штаму з комерційними пробіотичними культурами, тощо. Вперше безпека штаму підтверджена дослідженнями *in vivo* у мишей за фізіологічними, біохімічними показниками та параметрами антиоксидантної системи.

6. Теоретичне та практичне значення роботи й впровадження отриманих результатів.

Робота має важливе теоретичне значення. Комплексний геномний та функціональний аналіз *Enterococcus sp.* SB12 дозволив оцінити його позитивні якості як пробіотичного препарату і можливі ризики практичного

використання у промисловості. Практичне значення полягає у повногеномному розшифруванні, що дозволило точно ідентифікувати штам, оцінити його безпеку для здоров'я, виявити гени антибіотикорезистентності та їхню локалізацію, оцінити функціональний і метаболічний потенціал. Крім того, одержану генетичну інформацію розміщено у міжнародній базі даних NCBI, що є важливим кроком для майбутніх теоретичних і практичних досліджень. Основні результати дисертаційної роботи впроваджено у навчальний процес біологічного факультету Львівського національного університету імені І. Франка.

7. Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях.

Основні результати, положення, висновки та новизна дослідження дисертаційної роботи висвітлені у 10 наукових працях, зокрема у 3 статтях, з яких 2 включені до міжнародної бази даних Scopus з імпакт фактором, а також 7 тезах у матеріалах наукових міжнародних і вітчизняних конференцій.

8. Обсяг та структура роботи, оцінка змісту дисертації та її положення, висновки та новизна дослідження

Робота містить анотацію українською та англійською мовами, список публікацій дисертантки за темою дисертаційного дослідження, перелік умовних скорочень, вступ і чотири розділи (огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень), висновки та список використаної літератури та додатки. У вступі обґрунтовано актуальність теми, мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, наведено наукову новизну роботи, практичне значення й особистий внесок дисертантки. В основній частині дисертаційної праці послідовно розкрито теоретичні засади дослідження, описано застосовані сучасні методи наукових досліджень, наведено одержані результати і проведено їхній аналіз. Отже, робота є завершеною, результати підтверджені апробацією на наукових конференціях та публікаціями у фахових виданнях. Рукопис за змістом і структурою відповідає вимогам МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» №40 від 12.01.2017 року.

9. Зауваження і побажання щодо змісту та оформлення дисертації.

Дисертаційна робота Мушинської В.С. є актуальною новою завершеною науковою працею. Позитивно оцінюю наукове і практичне значення дисертаційної роботи, та висловлюю наступні зауваження, побажання та запитання.

Скорочення у Переліку умовних скорочень необхідно подавати в алфавітному порядку.

На ст. 29 написано «Вони (ентерококи) переносять до 6,5% NaCl у середовищі ...». Варто слово переносять замінити на стійкі до.

У назві розділу 1.3.2 застосовано невдалу фразу «сенсорні властивості молочних продуктів». Правильно використовувати термін органолептичні властивості.

На рисунку 1.1 є технічні помилки (слово done під стійкістю до антибіотиків, муацій замість мутацій)

Відсутнє посилання на метод 2.3.11 Визначення оптимального рівня рН для культивування.

Слід розшифрувати наведені формули у розділах 2.3.13. Визначення рівня гідропероксидів ліпідів, 2.3.14. Визначення окислювальної модифікації білків, 2.3.15. Визначення вмісту ТБК-активних продуктів та в інших методиках 2 розділу.

На ст. 93 написано «Значне зниження кислотності у середовищах відбулося з 8 до 24 годин культивування до 4,2, 4,4 та 6,0, відповідно». Очевидно це або зниження рН або збільшення кислотності.

У назві Таблиці 3.9 слід подати розшифрування скорочення ОМБ.

На ст. 132 написано «...активністю жовчної солі гідролази...» – правильна назва гідролаза солей жовчних кислот.

Чому ви вважаєте ампіцилін і ванкоміцин ключовими медичними антибіотиками? Що є визначенням ключового медичного антибіотика?

Чи є зв'язок між виявленими генами стійкості до антибіотиків і результатами досліджень чутливості за допомогою диско-дифузійного методу?

Чим обумовлена нефункціональність виявлених генів антибіотикорезистентності?

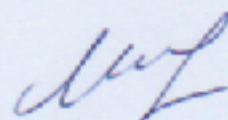
Яке значення виявлених генів профагів? Чи можуть ці гени забезпечити утворення повноцінних бактеріофагів за певних умов? Чи можливо, що саме вони проявляли протимікробну дію *Enterococcus* sp. SB12 проти низки тест-культур патогенних грампозитивних і грамнегативних бактерій та грибів?

Висловлені зауваження, побажання та запитання не знижують позитивну оцінку дисертаційної роботи.

10. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам
Дисертаційна робота **МУШИНСЬКОЇ ВІКТОРІЇ СТАНІСЛАВІВНИ**
на тему **«Геномна та функціональна характеристика пробіотичного потенціалу штаму *Enterococcus* sp. Sb12»** за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичним значенням одержаних результатів досліджень та висновків відповідає вимогам до оформлення дисертації, затвердженим Наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року № 40 (зі змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31.05.2019 р.) та «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, з урахуванням змін згідно Постанови Кабінету Міністрів України від 03.05.2024, № 507, а її автор, Мушинська Вікторія Станіславівна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія».

Рецензент:

в.о. завідувача лабораторії
молекулярної біології та генетики
Інституту біології тварин НААН,
кандидат біологічних наук



Марія КОЗАК

Підпис к.б.н., Козак М.Р. засвідчую,
в.о. вченого секретаря
Інституту біології тварин НААН
к.с.-г.н., с.н.с.



Костянтин СМОЛЯНІНОВ