



ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Стасюк Наталії Євгенівни

«МІКРОБНІ ЕНЗИМИ У ПОСЄДНАННІ З НАНОЗИМАМИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ
БІО(ХЕМО)СЕНСОРІВ ТА ТЕСТ-НАБОРІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ
ПРАКТИЧНО ВАЖЛИВИХ АНАЛІТІВ»,

представленої в спеціалізовану вчену раду Д35.246.01 Інституту біології
клітини НАН України на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук
за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія

1. Актуальність дисертаційної роботи.

Прогрес науки нерозривно пов'язаний з прогресом її методів. З цієї точки зору ми маємо вітати розробку нових методів аналізу чи появу різновиду уже відомого, який має кращі показники. Тому дуже цікавим напрямком є розробка сенсорів та тест-наборів для визначення широкого спектру різноманітних сполук. Головна перевага сенсорних пристрій – портативність, швидкість отримання результатів з високою специфічністю та достовірністю. Також низька ціна, як самих сенсорів так і аналізу, легкість обробки та інтерпретації даних зробили їх серйозними конкурентами стандартним традиційним методам. Крім того, вони не потребують високої кваліфікації персоналу, що їх використовує.

Дослідження останніх років показують високий потенціал для використання біо- та хемосенсорів майже в усіх галузях життєдіяльності людини, особливо в медичній діагностиці, екологічному моніторингу та контролі якості продуктів харчування і лікарських препаратів.

Серед широкого різноманіття сенсорних підходів, одним з найбільш перспективних є використання ензимних біосенсорів, за рахунок високої

селективності та швидкості роботи ензимів. До переваг цього класу систем також можна віднести непогану чутливість та простоту виготовлення.

Серед останніх тенденцій ензимної біосенсорики однією з найактуальніших є розробка нових підходів щодо покращення стабільності та зменшення собівартості систем за рахунок застосування в розробці генетично модифікованих ензимів та/або нанозимів - нанорозмірних сполук, що мають схожу з звичайними ензимами каталітичну активність. Біо- та хемо сенсори на основі цих нанозимів часто значно перспективніші для впровадження через те, що мають меншу собівартість та кращу стабільність. Саме розробка таких біосенсорних систем нового покоління і визначає актуальність дисертаційної роботи Стасюк Наталії Євгенівни.

Також актуальність роботи підтверджена її **зв'язком з науково-дослідними роботами**. Дисертаційна робота є результатом досліджень, які проведено автором на базі відділу аналітичної біотехнології Інституту біології клітини НАН України в рамках бюджетних тем: “Розробка нових біоаналітичних методів визначення вмісту L- і D-лактату та L-аргініну для діагностики деяких захворювань, контролю їх перебігу” (№ держреєстрації 0113U000142, 2013-2015 pp.), “Створення нових біосенсорних та ензиматичних методів визначення вмісту креатиніну як біомаркера функціонального стану нирок та контролю процесу гемодіалізу” (№ держреєстрації 0116U002208, 2016-2018 pp.), «Нанозими і наномедіатори: пошук, синтез, характеристика та використання для біосенсорного та ензиматичного аналізу на основі мікробних оксидоредуктаз» (№ держреєстрації 0119U001418, 2019-2021 pp.), а також в рамках програм НАН України: проект «Розробка, тестування та випуск пробної серії ензиматичного набору “Аргітест” для аналізу аргініну в клінічних зразках» (проект 29-2015), проект “Сенсорні прилади для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб: метрологічне забезпечення та дослідна експлуатація” (№ держреєстрації 0112U002963, 2013-2016 pp.), проект

«Створення смарт-сенсорних приладів для аналізу креатиніну та йонів амонію на основі нових нанокомпозитних плівок» (№ держреєстрації 0118U006259, 2018- 2022 рр.) та в рамках конкурсів НФД України: грант «Створення нових нанозимів як каталітичних елементів для ензиматичних наборів та хемо/біосенсорів», № держреєстрації 0120U104115, 2020-2022 рр. та грант «Створення ензиматичного набору та портативних біосенсорів для експрес-аналізу креатиніну – маркера гострих функціональних порушень нирок», № держреєстрації 0123U102859, 2023-2025 рр. Частина результатів дисертаційної роботи отримана у рамках міжнародного гранту НАТО: «Сучасні електрохімічні наносенсори для виявлення токсичних йонів» (SPS(NUKR)SFPP 984173, 2012 – 2016 рр.) та декількох міжнародних та вітчизняних індивідуальних проектів.

2. Основні наукові результати та новизна досліджень. Дисертаційна робота Стасюк Н.Є. є суттєвим внеском в розвиток уявлень щодо створення новітніх біосенсорних приладів та тест-систем на основі коіммобілізації ензимів з наноматеріалами.

У дисертаційній роботі вперше запропоновано розгорнуту методологію створення різних варіантів біоселективних елементів біосенсорів на основі різноманітних нанозимів для застосування в медицині, харчовій промисловості, екологічному моніторингу, науковій практиці, а також для контролю якості харчових продуктів та фармацевтичних препаратів.

Уперше доведено принципову можливість заміни природних ензимів на штучні нанозими в клітинах. Встановлено, що штам *O. polymorpha* C-105 з генетичним дефектом каталази здатний рости на метанолі та суміші глукози і метанолу в присутності нанозимів, що характеризуються каталазною активністю (катализми), які повністю відновлюють здатність мутантних

безкatalазних клітин метилотрофних дріжджів рости у середовищі, що містить метанол.

Вперше запропоновано, при розробці біоселективних елементів амперометричних біосенсорів для визначення L-аргініну, технологію поєднання каталітичних наноматеріалів з ензимами класу гідролаз: аргінази I та аргініндеімінази.

Розроблено новий ензиматичний метод на основі аргінази I та 2,3-бутандіонмонооксиму для селективного визначення дуже низьких концентрацій іонів Mn^{2+} (1 пМ) та Co^{2+} (2,5 пМ).

Уперше з використанням наноміметиків пероксидази та алкогольоксидази створено нові ензимо-нанозимні методи визначення концентрації етанолу.

Розроблено нову конструкцію високочутливого біосенсора на основі креатиніндеімінази для селективного визначення концентрації креатиніну в складних біологічних рідинах.

3. Обґрунтованість та достовірність одержаних результатів дослідження та висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи Стасюк Наталії Євгенівни забезпечена глибоким аналізом автора сучасного стану проблеми, про що свідчать наведені у першому розділі дисертаційної роботи 4 опублікованих у рейтингових закордонних журналах оглядів літератури (по 273, 97, 54 та 62 посилань у списку використаних джерел, відповідно). Усі експериментальні результати, наукові положення й висновки дисертаційної роботи Стасюк Н. С., побудовані на матеріалах власних досліджень з використанням традиційних і сучасних методів і є достовірними. Статистична обробка результатів виконана відповідно до вимог обробки експериментальних даних. Приведена у розділі 2 інформація про матеріали і методи досліджень підтверджує якісну постановку експериментів в

дисертаційній роботі. Задачі дисертаційного дослідження сформульовані чітко та логічно, відповідно до поставленої мети роботи. Робота виконана із використанням низки сучасних біологічних, фізико-хімічних, електрохімічних та статистичних методів аналізу, що дає підставу стверджувати, що отримані результати експериментів є **достовірними**.

Достовірність положень дисертації підтверджується статистичною обробкою отриманих експериментальних даних (розділ 3-8), відповідною інтерпретацією цих результатів та висновками, які успішно опубліковано у цілій низці високо рейтингових журналах із ретельним рецензуванням.

Значна частина результатів, які зумовлюють наукову значущість роботи, отримана Стасюком Н. Є. самостійно і є важливою для подальшого розвитку біосенсорних технологій і суміжних галузей науки і техніки. Отримані автором дані добре узгоджуються з результатами інших дослідників, а також результатами, одержаними з використанням інших методів досліджень. Отже, наукові положення та висновки Стасюка Н. Є., які наведені у дисертації, є обґрунтованими та є узагальненням великого масиву результатів, що задовольняють критеріям наукової новизни, достовірності та практичного значення. Результати дослідження захищені 3 патентами України на корисну модель.

4. Повнота викладення одержаних результатів у наукових працях.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 59 наукових праць, включаючи 24 статті у фахових виданнях (20 – у закордонних виданнях, з них 16 статей (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank, 6 розділів монографій (4 – у закордонних, із них – 2 огляди належать до Q1), 3 патенти України на корисну модель, 26 тез доповідей на міжнародних наукових конференціях. Сумарний імпакт фактор публікацій за темою дисертації – 90,82.

Автореферат дисертації оформленний згідно з вимогами ДАК України. Матеріали автореферату ідентичні з такими дисертаційної роботи та розкривають зміст кожного її розділу. В тексті автореферату логічно і стисло представлено основний зміст роботи, що дає повне уявлення про роботу в цілому. Зміст автореферату повністю відображає зміст, суть та основні положення дисертації.

5. Відповідність дисертаційної роботи профілю спеціалізованої вченої ради

Дисертаційна робота відповідає профілю спеціалізованої вченої ради на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальності 03.00.07 – мікробіологія.

6. Практичне значення одержаних результатів дослідження.

Результати, отримані у дисертаційній роботі, містять необхідну інформацію для впровадження нових або вдосконалених відомих методів діагностики низки важливих аналітів.

Отримано нові нанозимні композити, придатні для використання при розробці методів діагностики та тест систем. Опрацьовано нові високочутливі та селективні ензиматичні методи та відповідні біоаналітичні набори та тест-системи для визначення вмісту L-аргініну та креатиніну.

Запропоновано низку оптимізованих методів ензиматичного та біосенсорного моніторингу етанолу, L-аргініну, глюкози та метиламіну на основі L-селективних оксидоредуктаз та наноміметиків пероксидази.

Створено лабораторні прототипи ензимних та мікробних біосенсорів на основі очищених препаратів ензимів класу гідролаз, клітин надпродуцентних штамів дріжджів та метал-гібридних наночастинок. Згадані прототипи можуть

проходити метрологічну атестацію з метою подальшого впровадження задля практичного їх використання.

7. Структура дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота Стасюк Наталії Євгенівни побудована як кваліфікаційна наукова праця на правах наукової доповіді за сукупністю статей. Вона складається з **вступу**, де представлена інформація про актуальність роботи, мету та завдання дослідження, наукову новизну, практичну цінність та зв'язок роботи з державними науковими програмами, планами. **Перший розділ** дисертації присвячений огляду літератури, де авторка провела глибокий аналіз сучасного стану проблеми, про що свідчить чотири оглядові статті по темі (сумарно більше 450 цитованих літературних джерел). Аналіз літератури містить достатньо повний огляд публікацій про синтез та застосування нанозимів, їхні переваги порівняно з природними ензимами та перспективи практичного застосування. Розглянуто та проаналізовано основні досягнення в галузі розробки амперометричних біосенсорів на основі дріжджових клітин, ензимів та нанозимів. **Другий розділ** присвячено матеріалам та методам, де детально представлено опис методик, які використано для вирішення поставлених задач та аналізу результатів. У роботі використано мікробіологічні, генно-інженерні, біохімічні, фізико-хімічні, електрохімічні, аналітичні та біосенсорні методи дослідження. При аналізі активності ензимів та чистоти ензимних препаратів використано методи спектрофотометричного аналізу, електрофорезу білків за нативних та денатуруючих умов, іонообмінної та афінної хроматографії. При розробці біосенсорних систем використано циклічну вольтамперометрію, хроноамперометрію та статистичний аналіз.

Розділи 3, 4, 5, 6, 7 та 8 присвячені власним експериментальним роботам дисертанта. У **Розділі 3** представлено дослідження синтезу нових нанозимів та «зеленого» синтезу біонаночастинок за використання клітин термотolerантних

дріджів *Ogataea polymorpha*. Здійснено характеризацію усіх отриманих наноматеріалів за використання сучасних високоточних методів сканувальної електронної, атомно-силової мікроскопії; методу динамічного світlorозсіювання, рентгено-спектрального та рентгеноструктурного аналізу. Встановлено, що розмір отриманих матеріалів знаходиться в межах від 10 нм до 15 мкм. Проведено скринінг 50 різних нанозимів на псевдоензиматичну, показано що 12 володіють пероксидазною, 2 – редуктазною, 2 – каталазною, і по одному типу – глутатіонпероксидазною та глутатіонредуктазною активностями. Синтезовані НЗ із редуктазною активністю використано для конструювання амперометричного біосенсора для аналізу селеніту.

У Розділі 4 наведено результати вивчення впливу наночастинок на еукаріотичні клітини дріджів *Ogataea (Hansenula) polymorpha*. Клітини вирощували на середовищі із додаванням різних НЧ шляхетних і перехідних металів та нанозимів. Встановлено, що НЧ у концентрації (до 0,1 мг/мл) нетоксичні для клітин дріджів, а нанозими за тієї ж концентрації проявляють різний цитотоксичний вплив на клітини дріджів. Нанозими з каталазною активністю знижують виживання клітин в 2,6-4,5 раза, тоді як НЗ з пероксидазною активністю дещо підвищують цей показник.

Також в роботі вивчено ефективність поглинання клітинами *O. polymorpha* різних нанозимів. У клітин із нанозимами показано зростання ензиматичної активності (наприклад, псевдоредуктазна активність НЗ підвищується у 10,7 раза).

Нанозими з каталазною активністю використали для вивчення їхнього впливу на ріст та властивості безкatalазного штаму дріджів *Ogataea polymorpha C-105 (gcrlcatX)*. Доведено, що поглинання безкatalазними клітинами «катализмів» відновлює здатність мутантних клітин рости на метанолі. Цей ріст клітин стає можливим за рахунок розщеплення надмірної кількості гідроген пероксиду, що утворюється внаслідок росту клітин на

метанолі, усуваючи його токсичну дію на клітини. Це один з найвагоміших результатів дисертаційної роботи, що доводить принципову можливість заміни природного ензиму нанозимом.

Також в цьому розділі запропоновано новий метод візуалізації клітин, заснований на використанні флуоресцентних наночастинок Au та Ag.

Розділ 5 присвячений розробці новітніх підходів щодо конструювання амперометричних біосенсорів на основі різних комбінацій нанозимів із мікробними оксидазами.

Наприклад, у поєднанні з нанозимами, використовували алкогольоксидазу *O. polymorpha*, глюкозооксидазу *Penicillium vitale*, аргініноксидазу *Amanita phalloides* та метиламінооксидазу *O. polymorpha*. Розроблені моноензимні біосенсори на основі нанозимів мають кращі аналітичні характеристики, порівняно з відповідними бієнзимними сенсорами на основі звичайної пероксидази.

Також протестовано широкий спектр наноматеріалів на псевдо-ензиматичну активність до Гідроген пероксиду при розробці біосенсорів для визначення аргініну. Більшість варіантів характеризуються високою чутливістю та операційною стабільністю.

Створено новий ензимо–нанозимний метод на основі алкогольоксидази та НЗ PtCu як ефективного міметика пероксидази для аналізу етанолу.

Усі описані в цьому розділі біосенсори та тест-системи для аналізу етанолу та метиламіну протестовано на зразках харчових продуктів. Коефіцієнт кореляції різних методик становив $R=0,999$, що свідчить високу точність аналізу з використанням розроблених систем.

У **Розділі 6** досліджено ефективність введення екзогенних ензимів (аргінази, алкогольоксидази та флавоцитохрому b_2) в дріжджові клітини *O. polymorpha* з метою підвищення в них кількості цільового ензиму та подальшого застосування цих збагачених клітин для розробки біосенсорів.

Найкраще посилення каталітичної активності рекомбінантних клітин було отримано за рахунок додавання в них відповідних ензимів, кон'югованих з НЧ. Цей підхід щодо покращення аналітичних характеристик біосенсорів є новаторським у біосенсориці.

Наприклад, модифікація пермеабілізованих клітин дріджів наночастинками золота, зв'язаними з АО, покращує відгук сенсора у 21 раз.

У **розділі 7** представлено результати розробки амперометричних біо- та хемосенсорів на основі амоній-селективних наночастинок та мікробних гідролаз – аргініндеімінази *Mycoplasma hominis* і аргінази I людини *O. polymorpha*. Для цієї роботи було синтезовано металеві нанокомпозити – «нанохелатори», здатні утворювати редокс-активні координаційні сполуки з аміаком. Оптимізовано методи іммобілізації ензимів і хелаторів на поверхні амперометричних перетворювачів. У рамках цих експериментів було запропоновано низку лабораторних прототипів амперометричних нанобіосенсорів на основі різних ензимів (аргініноксидаза, рекомбінантна аргіназа I із уреазою та аргініндеіміназа), коіммобілізованих із різними варіантами хелаторів. Найкращі розробки протестовано для оцінки вмісту L-аргініну в соках, дані добре корелювали з результатами референтного методу.

Також в рамках цього розділу створено два варіанти ензимо-флуоресцентного методу аналізу вмісту L-аргініну – моноензимний та двоензимний. Показано можливість використання розроблених біоаналітичних методів для аналізу L-аргініну в реальних зразках фармацевтичних препаратів та біологічних рідин. Усі розроблені ензиматичні методи аналізу L-аргініну на основі аргінази I/уреази характеризувалися високою чутливістю і широким лінійним діапазоном роботи, їх було апробовано при визначенні аргініну в зразках вин, сироваток крові, фармацевтичних препаратів.

Крім того, створено флуорометричний метод для дуже чутливого аналізу іонів Mn^{2+} та Co^{2+} за використання рекомбінантної аргінази I людини. Межа

виявлення Mn^{2+} була 1 пМ, а для Co^{2+} становить 2,5 пМ. Метод було успішно апробовано для аналізу цих іонів у зразках стічних вод із шахт добування золота та міді. Отримано високий рівень кореляції атомно-абсорбційною спектрометрією ($R = 0,998$).

Розділ 8 присвячено розробці нових біосенсорів та ензиматичних тест-наборів для кількісного визначення вмісту креатиніну. Опрацьовано оптимальну схему препаративного виділення та очищення рекомбінантної креатиніндеімінази (КДІ) з клітин штама-продуцента *Escherichia coli*. Показано, що рекомбінований ензим є термостабільним (температурний оптимум 75 °C) і стійкий у широкому діапазоні pH (6,0 – 10,5) та високоселективний до субстрата. Оптимізовано умови ковалентної іммобілізації КДІ на поверхні електродів, покритих наночастинками металів. На основі КДІ та амоній-селективних наночастинка Cu/Zn(Hg)S сконструйовано амперометричний біосенсор, що характеризується високою селективністю та чутливістю до креатиніну (нижня межа визначення креатиніну 0,45 мкМ).

Також описано інший біосенсор на основі КДІ для аналізу креатиніну, який функціонує при низьких потенціалах (-50 мВ) завдяки нанокомпозитам, чутливим до N-метилгідантоїну (продукт КДІ). Цей біосенсор характеризувався достатньою чутливістю, широким лінійним діапазоном та низькою межею виявлення (0,5 мкМ).

У роботі запропоновано і ензиматичний аналіз креатиніну за використання рекомбінантної КДІ з спектрофотометричною та флуориметричною детекцією з границею виявлення креатиніну 6 мкМ та 0,2 мкМ, відповідно. Порівняльний аналіз результатів визначення креатиніну в зразках сироватки крові пацієнтів із порушенням функцією нирок біосенсорним на флуорометричним методами показав високий рівень кореляції аналітичних даних ($R = 0,998$).

У **Розділі «Узагальнення результатів досліджень»** автор наводить узагальнений аналіз одержаних результатів. У розділі подано рекомендації

щодо поєднання різних експериментальних підходів класичної мікробіології, генетичної інженерії та нанотехнологій для створення нових селективних біоаналітичних методів кількісного аналізу практично важливих аналітів, зокрема, метиламіну, етанолу, креатиніну та L-аргініну, визначення яких є важливим для практичного використання у клінічній діагностиці, фармацевтиці та харчовій промисловості.

Висновки чітко сформульовані, обґрунтовані та відображають в повній мірі основні результати дисертаційної роботи, відповідають поставленим в дисертації завданням. Висновки чіткі, логічні, лаконічні. Усі висновки роботи опубліковано у відповідних статтях.

8. Зауваження та запитання

У цілому дисертація є завершеною, науковою роботою, хоча, слід відмітити певні зауваження та запитання, які виникли в процесі ознайомлення з нею.

1. У Вступі та анотації до Огляду літератури варто було б зробити більший акцент не на біотехнологічні, а мікробіологічні аспекти роботи.
2. Які основні переваги створених нанозимів, що характеризуються пероксидазною активністю? Адже основні аналітичні характеристики, які наведені в авторефераті, це чутливість, лінійний діапазон роботи та мінімальна границя визначення, проте вказані параметри знаходяться на рівні звичайного ензиму. Менша вартість в даному випадку також є сумнівною перевагою, оскільки пероксидаза є відносно дешевим ензимом, за 50 євро можна придбати до 1000 од.акт., з яких можна зробити сотні біосенсорів багаторазового використання.
3. Навіщо у третій розділ був доданий підрозділ, що стосується синтезу наночастинок золота? Оскільки розділ 3, судячи з назви, мав би стосуватись лише роботи з нанозимами.

4. Ідея застосування НЗ для компенсування природних ензимів у клітинах, що описана у 4-му розділі, дійсно дуже перспективна і новаторська. Але щодо вашого конкретного випадку із клітинами дріжків - чи не простіше було б використовувати дешеву комерційну каталазу?
5. Відомо що наночастинки золота та платини можуть характеризуватись цито- та/або генотоксичністю, чи стосується це й нанозимів? Якщо так, то яким чином ви враховуєте цей момент при роботі і застосуванні цих клітин дріжджів?
6. П'ятий розділ – найбільший, близько 10 закордонних статей про розробку різноманітних біосенсорів для визначення цілої низки аналітів, але в авторефераті цьому розділу присвячено менше двох сторінок. При цьому одна з двох ілюстрацій опису присвячена фотографіям металізованої поверхні графітових електродів. Єдине, що видно з цих фото, це пори у золотому шарі - 25-50 мкм , але не було наведено жодного пояснення в тексті навіщо саме такий розмір. Чи не краще було виділити місце в тексті на щось більш вагоме?
7. Незрозуміло, чому обрано саме золото серед інших можливих металів, оскільки методики металізації поверхні для збільшення чутливості та зменшення потенціалу роботи графітових та карбонових електродів широко відомі, але різні автори використовували різні метали.
8. У таблиці 4-го розділу наведено характеристики біосенсорів на основі металізованих графітових електродів з біоселективними елементами з та без нанозимів. Ефект нанозимів явно виражений і суттєвий, але характеристики самих сенсорів слабші у порівнянні з аналогами. Припускаю, що це саме пов'язано з вибором графітових електродів. У випадку, якщо я помиляюсь, спростуйте моє твердження.
9. У 7 розділі, в Таблиці 2, порівнюються характеристики різноманітних аргінін-чутливих біосенсорів на основі різних комбінацій ензимів та нанозимів у складі біоселективних елементів. На жаль, біосенсори, розроблені з

використанням різних фізичних перетворювачів, тому важко оцінити вплив саме біомембрани на характеристики сенсорів.

10. Також в таблиці 2 цього розділу, в деяких клітинках зазначено Н.в. (не визначали). Чому не визначали важливі параметри біосенсорів, за якими проводиться порівняння?

11. У таблиці 3, порівнюються розроблені ензиматичні методи визначення аргініну з відомими в літературі. Більшість ваших методик характеризуються відмінними характеристиками та на порядки кращими за аналоги. Відомо, що чутливість спектрофотометричних та флуорометричних методів дуже сильно залежить від тривалості аналізу (часу взаємодії усіх компонентів ензиматичного набору), чи враховували ви цей параметр при порівнянні?

12. У цьому ж розділі 7, розроблено ензиматичну методику визначення іонів кобальту та марганцю. Як ви збираєтесь використовувати цю методику при роботі з реальними екологічними зразками, з урахуванням того що аргіназа інгібується більшістю важких металів, що можуть бути присутні в зразках?

13. Восьмий розділ присвячено розробці біосенсорів та інших методів на основі ензимів та нанозимів для визначення креатиніну. В описі є чудова фотографія спеціально розробленого портативного аналізатора, але не наведено його характеристик. Цікаво було б порівняти його з відомими портативними потенціостатами «PalmSens», «Dropsens» та ін. Назвіть його переваги, будь ласка.

14. У цілому, в рамках дисертаційної роботи розроблено десятки сенсорних, спектрофотометричних, флуорометричних та ін. методів визначення аргініну, креатиніну та інших субстратів, більшість характеризуються чудовими аналітичними параметрами. Навіщо було стільки розробляти, якщо майже всі їх можна використовувати для роботи з реальними рідинами? Не вистачає якогось аналізу, стосовно того які з них є кращими і для яких ситуацій оптимальнішим буде кожен з цих методів.

15. Також при прочитанні роботи та аналізу параметрів розроблених сенсорів не вистачає інформації про концентрації аргініну, креатиніну та інших аналітів у зразках для яких планувалось практичне застосування розробок.

Загалом, у дисертаційній роботі міститься низка граматичних та стилістичних помилок, є декілька повторів та використання жаргону.

Згадані зауваження не можна вважати такими, що впливають в цілому на позитивне враження, яке спровокає робота дисертантки.

9. Загальний висновок щодо дисертаційної роботи.

Результати роботи опубліковано у великій кількості високо-рейтингових статей та широко представлено на конференціях. Наукове та практичне значення роботи не підлягає сумніву.

Вважаю, що дисертаційна робота Стасюк Наталії Євгенівни «Мікробні ензими у поєданні з нанозимами для створення біо(хемо)сенсорів та тест-наборів для визначення вмісту практично важливих аналітів», виконана на високому науковому рівні та є завершеним науковим дослідженням на актуальну тему. Дисертація, представлена 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 до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеню доктора наук, зокрема вимогам пунктів 7-9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 р., наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40 "Про затвердження Вимог до оформлення дисертації" і наказу Міністерства освіти і науки України від 23.09.2019 № 1220 «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук».

Стасюк Наталія Євгенівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю мікробіологія – 03.00.07; 09 – біологічні науки.

Провідний науковий співробітник
відділу біомолекулярної електроніки
Інституту молекулярної біології і генетики
НАН України, д.б.н., с.н.с.

– Олександр СОЛДАТКІН

