

Довідка про творчий внесок у роботу
Стогнія Євгенія Миколайовича
кандидата біологічних наук, наукового співробітника
відділу структури та функції білка
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Результати, наведені в статтях із співавторами, отримані особисто автором або за його безпосередньої участі. Стогнієм Є.М. було продемонстровано здатність протеїназ різного походження розщеплювати молекулу фібрин(оген)у. Характеризувалась фібрин(оген)олітична активність ензимів за допомогою гель-електрофорезу в системі Лемлі, ензим електрофорезу та визначення здатності розщеплювати хромогенні субстрати. Ці протеїнази найбільш специфічно розщеплювали А α -ланцюг фібрин(оген)у. В роботі було досліджено ендопептидази з таких джерел: з культурального середовища *Bacillus thuringiensis*; культурального середовища *Bacillus sp.*; з гриба *Pleurotus ostreatus*; з отрут змій *Echis multisquamatus* та *Gloydius halys halys*. Дослідження дозволило обрати два ензими, які найбільш ефективно розщеплювали молекулу фібрин(оген)у - це протеїназа з культурального середовища *B. thuringiensis* та з отрути *G. halys halys*. за допомогою інгібіторного аналізу було встановлено, що вони є сериновими протеїназами.

За безпосередньої участі автора, використовуючи методи електрофорезу у поліакриламідному гелі, вестерн блот аналіз та MALDI-TOF мас спектрометрію було встановлено, що дія протеїнази з *B. thuringiensis* призводить до відщеплення від молекули фібрин(оген)у ділянки з масою 11.4 кДа. В той же час, дія протеїнази з отрути *G. halys halys* спричиняє відщеплення від С-кінцевої ділянки А α -ланцюга фрагмента з масою 21.1 кДа. Аналізуючи послідовність фібрин(оген)у та особливості специфічності досліджуваних протеїназ було виявлено, що при їх дії утворюються форми фібрин(оген)у desA α 505-610 (за дії протеїнази з *B. thuringiensis*) та фібрин(оген)у desA α 414-610 (за дії ензиму з *G. halys halys*).

Стогнієм Є.М. використовуючи метод турбідиметрії, було встановлено, що при дії на фібрин(оген) досліджуваних протеїназ, для тромбін-індукованої полімеризація фібрину характерне подовження lag-періоду процесу та зростання кінцевої мутності середовища. Збільшення мутності середовища неочікуваний прояв гідролізу фібриногену, оскільки у більшості випадків дії протеїназ на фібрин(оген) спостерігається саме зниження помутніння розчину. Тому, процес полімеризації фібрину за дії на нього досліджуваних протеїназ, вивчали і за допомогою електронної мікроскопії в якій автор приймав участь у підготовці зразків. Виявлено, що дія цих протеїназ призводить до утворення згустку з тонкими, невпорядкованими та аномальними фібрилами.

Автором, за допомогою методу агрегатометрії, було встановлено, що дія протеїнази з культурального середовища *B. thuringiensis* майже не змінює

здатність фібриногену до підтримання агрегації тромбоцитів, адже при таких умовах знижується ступінь агрегації тільки на 15 %, а швидкість процесу не змінюється. В той же час, швидкість агрегації тромбоцитів за дії на фібрин(оген) протеїнази з отрути змії *G. halys halys* знижується на 35 %, а ступінь агрегації на 50 %.

Стогній Є. М. приймав безпосередню участь в отриманні фібринів desABdesAα505-610 та desABdesAα505-610 для визначення впливу досліджуваних протеїназ на здатність взаємодіяти з ендотеліоцитами. За допомогою МГТ-тесту було виявлено, що за дії обох протеїназ на фібрин(оген) в однаковій мірі знижується здатність до підтримання життєздатності ендотелійних клітин.

Всі друковані праці підготовлено за безпосередньої участі Стогнія Є.М.

Під час виконання роботи Стогній Є.М. обіймав наступні посади:

2015-2019 рр. – інженер I кат. відділу структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

2019 р. – провідний інженер відділу структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

2019 р. – молодший науковий співробітник відділу структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

З 2020 р. науковий співробітник Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Також у 2016-2020 рр. – аспірант ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Кількість публікацій за темою роботи: 5 статей, 1 патент на корисну модель, 2 тез.

Загальна кількість посилань на публікації за темою роботи: 13 (Google Scholar), 1 (Scopus). **h-index:** 1 (Scopus), 2 (Google Scholar).

Загальна кількість публікацій автора: 11 статей, 15 тез доповідей, 2 патенти на корисну модель.

Н.с. відділу структури та функції білка
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України,
доктор філософії

Євгеній СТОГНІЙ

Учений секретар Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України,
к.б.н.



Ольга ХУДЯКОВА

30 квітня 2024 року

Довідка про творчий внесок у роботу
Сіромолота Андрія Андрійовича,
кандидата біологічних наук, наукового співробітника
відділу молекулярної імунології
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Результати, наведені в статтях із співавторами, отримані особисто автором або за його безпосередньої участі. Сіромолотом А.А. було сконструйовано генетичні конструкції, що кодують рекомбінантні аналоги протеїнів *Mycobacterium tuberculosis complex* МРТ63, МРТ83 та химерний антиген МРТ83-МРТ63 в одній рамці зчитування. Було отримано та очищено рекомбінантні протеїни, проведено їх характеристику за допомогою гелелектрофорезу в системі Лемлі (з модифікацією), імуноблот аналізу, MALDI-TOF мас-спектрометрії.

Автором було отримано дані стосовно імуногенності та антигенності одержаних мікобактеріальних протеїнів на лінійних мишах, що дало поштовх та обґрунтування для використання секреторного протеїну МРТ63 та мембранозаякореного МРТ83 у якості антигенної субстанції для серологічних діагностикумів на основі твердофазного непрямого імуноензимного аналізу (ІЕА). Автором вперше були отримані дані щодо патогенетичних клітин-мішеней та молекул-мішеней одержаних рекомбінантних протеїнів. За допомогою методу фагового дисплею автором отримано одностанцюгові рекомбінантні антитіла до МРТ63 та МРТ83, що можуть бути використані як компоненти діагностикумів для детекції відповідних молекул у біологічних рідинах. Автор вперше показав вплив одержаних мікобактеріальних антигенів на активацію, дозрівання та фагоцитарну активність макрофагів.

За безпосередньої участі Сіромолота А.А. розроблено протоколи одержання, очищення та сорбції антигенної субстанції для діагностики туберкульозу людини. Автором разом із співвиконавцями було розроблено лабораторний регламент, проект технічних умов використання антигенної субстанції та прототипу тест-системи «ІВ-Chem Anti-*Mycobacterium tuberculosis*», що дозволяє стандартизувати процес виробництва запропонованих діагностикумів для виявлення туберкульозу.

Автором було показано, що «ІВ-Chem Anti-*Mycobacterium bovis*» є ефективною для виявлення саме інфікованих *M.bovis* тварин. Сіромолот А.А. зробив особливий акцент на відсутність перехресної реакції компонентів МРТ83(FLD₁₁₅₋₂₂₀)-МРТ63 із протеомом інших видів мікобактерій. Зразки сироваток корів, які були заражені атипovими видами *Mycobacterium* не

давали позитивного сигналу при ІЕА. Така особливість антигенної субстанції в розробленому зразку тест-системи диверсифікувала тварин інфікованих нетуберкульозними штамми і могла попередити вилучення та забій умовно-здорових тварин із стада.

Всі друковані праці підготовлено за безпосередньої участі Сіромолота А.А.

Під час виконання роботи Сіромолот А.А. обіймав наступні посади:

2015-2018 рр. – інженер I кат. відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

2015-2018 рр. – аспірантура ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка з відривом від виробництва.

2018-2019 рр. – молодший науковий співробітник відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

З 2019 – асистент кафедри технологій медичної діагностики та лікування ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

З 2019 - науковий співробітник відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Кількість публікацій за темою роботи: 7 статей, 9 тез доповідей, 2 патенти на корисну модель.

Загальна кількість посилань на публікації за темою роботи: 6 (Scopus), 16 (Google Scholar). **h-index:** 2 (Scopus), 2 (Google Scholar).

Загальна кількість публікацій автора: 14 статей, 18 тез доповідей, 2 патенти на корисну модель.

Н.с. відділу молекулярної імунології
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України, к.б.н.

Андрій СІРОМОЛОТ

Учений секретар Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України,
к.б.н.



Ольга ХУДЯКОВА

30 квітня 2024 року