Облікова картка ДіР

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0220U102557

Державний реєстраційний номер: 0116U002209

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 25-03-2020

II. Етап виконання ДіР

Номер етапу: 4

Назва етапу: Механізми деградації цитозольних ферментів катаболізму метанолу у дріжджів: фруктозо-1,6-бісфосфатази, формальдегіддегідрогенази, форміатдегідрогенази.

Початок етапу: 01.2019

Закінчення етапу: 12.2019

Вид звітного документа: Остаточний звіт

III. Відомості про виконавця ДіР

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: Драгоманова 14/16, м. Львів, Львівська обл., 79005, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 380322612108

IV. Відомості про співвиконавців ДіР

V. Відомості про замовника ДіР

Повне найменування юридичної особи: Національна академія наук України

Код за ЄДРПОУ: 00019270

Місцезнаходження: вул. Володимирська, 54, м. Київ, Київська обл., 01030, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Кабінет Міністрів України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 380442350981

VI. Джерела, напрями та обсяги фінансування ДіР

Підстава для проведення ДіР: 34 - договір (замовлення) з центральним органом виконавчої влади, академією наук (головними розпорядниками бюджетних коштів на проведення НДДКР)

Напрям фінансування: 2.1 - фундаментальні дослідження

Джерела фінансування

7713 - кошти держбюджету

Код програмної класифікації видатків і кредитування (КПКВК): 6541230

Фактичний обсяг фінансування (тис. грн.): 860.079

VII. Відомості про ДіР

Назва роботи українською:

Генетичні та біохімічні аспекти регуляції деяких катаболічних та анаболічних процесів у мікроорганізмів: алкогольної ферментації, катаболізму метанолу, біосинтезу флавінів, гліцерину, водню та глютатіону

Назва роботи англійською:

Genetic and biochemical aspects of the regulation of some catabolic and anabolic processes in microorganisms: alcoholic fermentation, catabolism of methanol, biosynthesis of flavins, glycerol, hydrogen and glutathione

Реферат українською:

На сьогодні механізми деградації власних цитозольних білків, а також рекомбінантних чужорідних білків біотехнологічного значення з цитозольною локалізацією у метилотрофних дріжджів залишаються нез’ясованими. Оскільки, дисфункція автофагії пов’язана із раком, нейродегенерацією, мікробною інфекцією і старінням, то дослідження різних аспектів автофагії на модельному об’єкті (метилотрофних дріжджах) та екстраполяція отриманих даних на інші еукаріотичні організми має важливе значення для медицини. Для дослідження можливих шляхів деградації цитозольних ферментів було обрано фруктозо-1,6-бісфосфатазу (FBP). У середовищі з глюкозою цей фермент швидко інактивується і деградує, тому є зручним модельним білком для досліджень. Сконструйовано рекомбінантні штами метилотрофних дріжджів K. pastoris з експресією генів, що кодують Fbp1 K. pastoris злиті з зеленим флуоресцентним білком GFP і одночасно експресують ген, що кодує червоний флуоресцентний білок RFP з PTS1 сигналом, для мічення пероксисом. Ці штами вирощували на середовищі з гліцерином, а потім переносили на середовище з глюкозою для стимулювання деградації FBP у K. pastoris. Також для мічення вакуоль було використано вакуолярний барвник FM 4-64. Дані флуоресцентної мікроскопії чітко продемонстрували, що Fbp1, деградує у вакуолях шляхом автофагії. Водночас деградація Fbp1 була пошкодженою у штама з блокованими вакуолярними протеїназами, що свідчить про істотну роль вакуолей у деградації Fbp1. Флуоресцентна мікроскопія підтвердила наші висновки про те, що Fbp1 у K. pastoris деградує вакуолярним шляхом. Запропоновано новий метод селекції мутантів K. phaffii з пошкодженням генів, пов’язаних з процесом автофагійної деградації цитозольних білків за рахунок використання □-галактозидази K. lactis злитої з GFP. Цей метод було використано для одержання інсерційних мутантів, у яких сповільнено процес деградації □-галактозидази після перенесення на глюкозу.

Реферат англійською:

Today, the mechanisms of degradation of cytosolic proteins of their own, as well as of recombinant foreign proteins of biotechnological significance with cytosolic localization in methylotrophic yeast, remain unclear. Since autophagy dysfunction is associated with cancer, neurodegeneration, microbial infection and aging, the study of various aspects of autophagy on a model object (methylotrophic yeast) and extrapolation of the data to other eukaryotic organisms is important for medicine. Fructose-1,6-bisphosphatase (FBP) was selected to study the possible degradation pathways of cytosolic enzymes. In an environment with glucose, this enzyme is rapidly inactivated and degraded and is therefore a convenient model protein for research. Recombinant K. pastoris yeast methylotrophic yeast strains have been engineered to express Fbp1 K. pastoris genes fused to the green fluorescent protein GFP and simultaneously express the gene encoding red fluorescence protein RFP to PTS1 signaling. These strains were grown on glycerol medium and then transferred to glucose medium to stimulate FBP degradation in K. pastoris. Vacuum dye FM 4-64 was also used to label the vacuoles. Fluorescence microscopy data clearly demonstrated that Fbp1 degrades in vacuoles by autophagy. At the same time, Fbp1 degradation was damaged in a strain with blocked vacuolar proteinases, indicating a significant role of vacuoles in Fbp1 degradation. Fluorescence microscopy confirmed our findings that Fbp1 in K. pastoris degrades in a vacuolar manner. A new method for the selection of K. phaffii mutants with damage to genes associated with the process of autophagic

cytosolic protein degradation due to the use of K. lactis -galactosidase fused with GFP is proposed. This method was used to obtain insertion mutants that slow down the process of -galactosidase degradation after transfer to glucose.

Індекс УДК: 577.21, 577.21:577.164.1

Коди тематичних рубрик: 34.15.23

Керівники роботи

Власне Прізвище Ім'я По-батькові: Сибірний Андрій Андрійович

Науковий ступінь:

Наукове звання:

Ідентифікатор ORCHID ID:

Додаткова інформація:

VIII. Наукова (науково-технічна) продукція (НТП)

Назва НТП українською: Рекомбінантні штами метилотрофних дріжджів K. pastoris з експресією генів, що кодують Fbp1 K. pastoris злиті з зеленим флуоресцентним білком GFP і одночасно експресують ген, що кодує червоний флуоресцентний білок RFP з PTS1 сигналом, для мічення пероксисом.

Назва НТП англійською: recombinant K. pastoris methylotrophic yeast strains expressing genes encoding Fbp1 of K. pastoris fused to green fluorescent protein GFP and simultaneously expressing gene encoding red fluorescent RFP protein with PTS1 signal.

НТП, яку передбачалося створити:

Причини, через які НТП не було створено:

Отримані результати: Технології

Галузь застосування: біотехнологічне виробництво

Реєстраційний номер картки технології:

Опис НТП: Отримано рекомбінантні штами метилотрофних дріжджів K. pastoris з експресією генів, що кодують Fbp1 K. pastoris злиті з зеленим флуоресцентним білком GFP і одночасно експресують ген, що кодує червоний флуоресцентний білок RFP з PTS1 сигналом, для мічення пероксисом. для мічення вакуоль було використано вакуолярний барвник FM 4-64.Дані флуоресцентної мікроскопії чітко продемонстрували, що Fbp1, деградує у вакуолях шляхом автофагії. Водночас деградація Fbp1 була пошкодженою у штама з блокованими вакуолярними протеїназами, що свідчить про істотну роль вакуолей у деградації Fbp1.

Соціально-економічна спрямованість НТП: Поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Вплив НТП на довкілля:

Впровадження НТП: Не впроваджено

Практична реалізація НТП

- **Початок етапу:**
- **Закінчення етапу:**

Споживачі продукції:

Перспективні ринки:

Характер співробітництва з інвестором

- **Потрібний обсяг інвестицій, тис. грн.:**
- **Права, що надаються інвестору після завершення роботи:** Права не надаються
- **Наявність бізнес-плану:** Ні
- **Техніко-економічне обгрунтування:** Ні
- **Потенціальний обсяг продажу, тис. грн.:**
- **Очікуваний термін окупності (років):**
- **Додаткова інформація:**

IX. Бібліографічний опис

1.Kurylenko O., Dmytruk K., Sibirny A. Glutathione Metabolism in Yeasts and Construction of the Advanced Producers of This Tripeptide // Non- conventional Yeasts: from Basic Research to Application. – 2019. – DOI: 10.1007/978-3- 030-21110-3-6; 2. Lyzak OO, Ledesma-Amaro R., Dmytruk KV, Sibirny AA, Revuelta JL Molecular studies of the flavinogenic fungus Ashbya gossypii and the flavinogenic yeast Candida famata. // ibid, P.281-296.

3. Semkiv M., Sibirny A. Yeasts for bioconversion of crude glycerol to high value chemicals // Non-conventional Yeasts: from Basic Research to Application. – 2019. – DOI: 10.1007/978-3-030-21110-3-12

4.. Berezka K., Semkiv M., Borbuliak M., Blomqvist J., Linder T., Ruchała J., Dmytruk K., Passoth V., Sibirny A. Insertional tagging of the Scheffersomyces stipitis gene HEM25 involved in regulation of glucose and xylose alcoholic fermentation // Cell Biology International.2019 doi: 10.1002/cbin.11284

5. Kurylenko O., Rozenfelde L., Khroustalyova G., Vasylyshyn R., Ruchala J., Chang C.-R., Daugelavicius R., Sibirny A. Anhydrobiosis in yeasts: Glutathione synthesis by yeast Ogataea (Hansenula) polymorpha cells after their dehydration-rehydration // Journal of Biotechnology – 2019. – V. 10;304. – P. 28 – 30

6. Muter O., Rimkus A., Kalderis D., Khroustalyova G., Sibirny A., Rapoport A. Evaluation of the enhanced resistance of Ogataea (Hansenula) polymorpha to benzalkonium chloride as a resource for bioremediation technologies // Process Biochemistry. – 2019. – DOI: 10.1016/j.procbio.2019.08.026

7. Ruchala J., Kurylenko O., Dmytruk K., Sibirny A. Construction of advanced producers of first and second generation ethanol in Saccharomyces cerevisiae and selected species of nonconventional yeasts (Scheffersomyces stipitis, Ogataea polymorpha) // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. – 2019. – DOI: 10.1007/s10295-019-02242-x

8. Semkiv M., Kata I., Ternavska O., Sibirny W., Dmytruk K., Sibirny A. Overexpression of the genes of glycerol catabolism and glycerol facilitator improves glycerol conversion to ethanol in the methylotrophic thermotolerant yeast Ogataea polymorpha // Yeast. – 2019. – V.36(5). – P. 329 - 339

9. Wang M., Cao Y., Xia M., Al-Hatmi A., Ou W., Wang Y., Sibirny A., Zhao L., Zou C., Liao W., Bai F., Zhi X., de Hoog S., Kang Y. Virulence and antifungal susceptibility of microsatellite genotypes of Candida albicans from superficial and deep locations // Yeast. – 2019. – V.36(5). – P. 363 - 373

X. Заключні відомості

Керівник юридичної особи

Сибірний Андрій Андрійович
д. б. н., 03.00.03

Перелік осіб-виконавців

Василишин Роксоляна Василівна

Дмитрук Олена Валеріївна

Куриленко Олена Олександрівна
(к. б. н.)

Семків Марта Віталіївна

Федоренко Віктор Олександрович
(д. б. н.)

Відповідальний за підготовку облікових документів

Федорович Дарія Василівна

Телефон

+38 (050) 371-00-40

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності