Облікова картка ДіР

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0217U004841

Державний реєстраційний номер: 0116U002208

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 09-03-2017

II. Етап виконання ДіР

Номер етапу: 1

Назва етапу: Створення нових біосенсорних та ензиматичних методів визначення вмісту креатиніну як біомаркера функціонального стану нирок та контролю процесу гемодіалізу

Початок етапу: 01.2016

Закінчення етапу: 12.2018

Вид звітного документа: Остаточний звіт

III. Відомості про виконавця ДіР

Повне найменування юридичної особи (або ПІБ фізичної особи): Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

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

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 380322612108, 380322728508, 380322740363

IV. Відомості про співвиконавців ДіР

V. Відомості про замовника ДіР

Повне найменування юридичної особи (або ПІБ фізичної особи): Національна академія наук України

Код за ЄДРПОУ: 00019270

Місцезнаходження: вул. Володимирська, буд. 54, м. Київ, 01601, Україна

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 380442343243

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: 2.2 - прикладні дослідження і розробки

Джерела фінансування

7713 - кошти держбюджету

Код програмної класифікації видатків і кредитування (КПКВК): 6541030

Фактичний обсяг фінансування (тис. грн.): 692.043

VII. Відомості про ДіР

Назва роботи українською:

Створення нових біосенсорних та ензиматичних методів визначення вмісту креатиніну як біомаркера функціонального стану нирок та контролю процесу гемодіалізу.

Назва роботи англійською:

Development of new biosensor and enzymatic methods for determination of the content of creatinine as a biomarker of kidney function and control process of hemodialysis.

Реферат українською:

Опрацьовано високочутливий експрес-метод оцінки активності креатиніндеімінази (КДІ) з флуориметричною детекцією кінцевого продукту та проаналізовано колекцію плісеневих грибів (10 видів) на наявність КДІ. Показано, що найвищу активність КДІ у середовищі з креатиніном виявляють штами грибів Botrytis allii та Chaetomium globosum. Проведено клонування гена codA Corynebacterium glutamicum на векторах індуктивних систем експресії з включенням у структуру рекомбінантного білка (His)6-фрагмента. Сконструйовано рекомбінантний надпродуцент КДІ на основі клітин E. coli з продуктивністю 20-50 мг/л культури. Опрацьовано одноетапний метод очищення рекомбінантного фермента з використанням метало-афінної хроматографії та отримано високо очищений препарат фермента з питомою активністю 22 мкмоль·хв-1·мг-1білка. Проведено фізико-хімічну та ензимологічну характеристику фермента, зокрема, визначено молекулярну масу субодиниці (46,3 кДа), вивчено температурний та pH-профіль активності, досліджено термо- та pH-стабільність фермента та його кінетичні параметри (k(кат) = 7,15 с-1; K(M) = 1,96 мМ відносно креатиніну). Показано, що фермент є термостабільним, має високий температурний оптимум (75 °С) і стійкий у широкому діапазоні pH (6,0-10,5).

Реферат англійською:

The highly sensitive express method for assay of creatinine deiminase (CDI) activity with fluorometric detection of final product was developed and collection of mould fungi (10 species) were analysed for the presence of CDI. It was shown that the highest activity of CDI in the medium containing creatinin exhibit the fungi strains Botrytis allii and Chaetomium globosum. CodA gene of Corynebacterium glutamicum was cloned on the vectors of the inducible expression systems with introduction into a structure of recombinant plasmid (His)6-tag. Recombinant strain E. coli overproducing CDI with the productivity 20-50 mg/L of culture was constructed. An one stage method of purification of recombinant enzyme using metal affinity chromatography was developed and the highly purified enzyme preparations with specific activity 22 mkmol·min- 1·mg-1 of protein were obtained. The physical and chemical properties of recombinant CDI were studied. It was shown that an enzyme is termostable, has a high temperature optimum (75 °C) and is stabile in wide range of pH (6,0-10,5).

Індекс УДК: 577.21:576.314;576.52;577.352, 543.94+547.495.9+577.152.35

Коди тематичних рубрик: 34.15.37

Керівники роботи

Власне Прізвище Ім'я По-батькові: Гончар Михайло Васильович

Науковий ступінь: д. б. н.

Вчене звання: професор

Ідентифікатор ORCID ID:

Додаткова інформація:

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

Назва НТП українською: Клонування гену мікробної креатиніндеімінази, конструювання ефективного надпродуцента фермента та опрацювання технології отримання очищеного рекомбінантного фермента

Назва НТП англійською: Cloning of microbial creatinin deiminase gene, construction of effective overproducer of the enzyme and development of technology for recombinant enzyme purification.

НТП, яку передбачалося створити:

Причини, через які НТП не було створено:

Отримані результати:

Галузь застосування: Дослідження та розробки в галузі природничих та технічних наук

Реєстраційний номер картки технології:

Опис НТП: Біоаналітичні методи на основі рекомбінантних ферментів

Соціально-економічна спрямованість НТП:

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:

Наявність бізнес-плану:

Техніко-економічне обгрунтування:

Потенціальний обсяг продажу, тис. грн.:

Очікуваний термін окупності (років):

Додаткова інформація:

IX. Бібліографічний опис

Список статей співробітників відділу аналітичної біотехнології Інституту біології клітини НАН України за 2016 р.:1. Karkovska M., Smutok O., Gonchar M. Laboratory prototype of bioreactor for oxidation of toxic D-lactate using yeast cells overproducing D-lactate-cytochrome c oxidoreductase // BioMed Research Intern. - 2016. - P. 1-5. (IF = 2.134). 2. Lesanavi?ius M., Smutok O., Valiauga B., Marozien? A., Gonchar M., Krik?topaitis K., ??nas N. Kinetic properties of flavocytochrome b2 from Hansenula polymorpha // Chemija. - 2016. - V. 2, N 2. - P. 23-127. (IF = 0.472). 3. Stasyuk N., Gayda G., Gonchar M. Novel arginine deiminase-based method to assay L-Arginine in beverages // Food Chemistry. - 2016. - V. 201. - P. 320-326 (IF = 3.391). 4. Stasyuk N., Gayda G., Yepremyan H.,

Stepien A., Gonchar M. Fluorometric enzymatic assay of L-arginine // Spectrochim. Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. - 2017. - V. 170. - P. 184-190. (available online 11 July 2016; http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2016.07.019) (IF = 2.653). 5. Stasyuk N., Gayda G., Klepach H., Gonchar M. Nanoparticles of noble metals as effective platforms for the fabrication of amperometric biosensor on hydrogen peroxide // Sensor Letters. - 2016. - V. 14, N 11-12. - P. 1-9 (IF = 0.32). 6. Stasyuk N., Synenka M., Gayda G., Smutok O., Gonchar M. Arginase-based amperometric biosensor for manganese ions analysis. // "Eureka. Life science". - 2016. - N 1. - P. 22-28. 7. Демків О.М., Банах С., Притула С., Гайда Г.З., Гончар М.В. Скринінг штамів мікроскопічних грибів ? продуцентів лактази // ScienceRise:Biological Science. - 2016. - № 3(3). - P. 66-69. 8. Stasyuk N., Gayda G., Serkiz R., Gonchar M.. The "green" synthesis of gold nanoparticles by the yeast Hansenula polymorpha // Вісник Львівського університету. - Вип.73. - С. 96-102. 9. Кобріна Л.В., Бойко В.В., Дмитрієва Т.В., Бортницький В.В., Прокопів Т.М., Рябов С.В., Гончар М.В. Вплив фізичних чинників і культур мікроорганізмів на деградацію сегментованих поліуретанів // Полімерний журнал. - 2016. - Т.38, №3. - С. 236-243. 10. Демків О.М., Банах С.Я., Павлішко Г.М., Гайда Г.З., Смуток О.В., Гончар М.В. Оксидази мікроскопічних грибів: скринінг штамів-продуцентів та перспективи біоаналітичного використання // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. - Вип. 73. - С. 55-64. 11. Карковська М.І., Смуток О.В., Гончар М.В. "Використання флавоцитохрому b2, іммобілізованого на магнітних мікрочастинках, в багатократному ензиматичному аналізі L-лактату" // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. - 2016. - Вип.72. - С. 25-32. Тези доповідей: 1. Demkiv O.M., Banakh S.J., Prutyla S.V., Stasyuk N.E., Gayda G.Z. Isolation, purification, and characterization of fungal laccase from Monilinia fructicola / Intern. Symposium on Cell Biology jointly with 5th Ukrainian Congress for Cell Biology (2-6 October 2016, Odesa, Ukraine), P. 48. 2. Demkiv O., Klepach H., Gayda G., Gonchar M. Biological approaches to detection and degradation of formaldehyde // Збірник матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції (12-14 жовтня 2016 р., Дрогобич), С. 52-54. 3. Fedorovych D.V., Kaszycki P., Dubicka-Lisowska A., Prokopiv T.M., Boretsky Y.R. Participation of riboflavin in chromate detoxification by the yeast Pichia guilliermondii // International Symposium on Cell Biology jointly with 5th Ukrainian Congress for Cell Biology (2-6 October 2016, Odesa, Ukraine), P. 40. 4. Karkovska M., Smutok O., Gonchar M. Application of recombinant yeast overproducing D-lactate cytochrome c oxidoreductase for removal of toxic D-lactate from fermented products // International Symposium on Cell Biology jointly with 5th Ukrainian Congress for Cell Biology (2-6 October 2016, Odesa, Ukraine), P. 18. 5. Stasyuk N., Gayda G., Fayura L., Gonchar M., Sibirny A. / Enzymatic methods for L-arginine assay in beverages // 6-th International Conference "Human, Nutrition, Environment" (20-21 April, 2016, Rzeszow, Poland), P.41. 6. Stasyuk N.Ye., Gayda G.Z., Klepach H.M., Gonchar M.V. Nanoparticles of noble metals as effective platforms for the fabrication of amperometric biosensors on hydrogen peroxide // Intern. Symposium on Cell Biology jointly with 5th Ukrainian Congress for Cell Biology (2-6 October 2016, Odesa, Ukraine), P. 19. 7. Nataliya Stasyuk, Andriy Zakalskiy, Oksana Zakalska, Galina Gayda, Mykhailo Gonchar. Recombinant human arginase i and its apoenzyme as bioanalytical tools for enzymatic assay of L-arginine and manganese ions by fluorometric methods / X Parnas Conference (10-12 July 2016, Wroc?aw, Poland.), P.70. 8. Sibirny V.A., Gayda G.Z., Stasyuk N.Ye., Serkiz R.Ya., Gonchar M.V. The yeast Ogataea polymorpha as a tool for the green synthesis of new bionanomaterials // Intern. Symposium on Cell Biology jointly with 5th Ukrainian Congress for Cell Biology (2-6 October 2016, Odesa, Ukraine), P. 45. 9. Закальський А.Є., Закальська О.М., Гринів О.Б., Стасюк Н.Є., Гончар М.В. Надсинтез (His)6-тагованої мікробної креатиніндеімінази в клітинах Escherishia coli // International Symposium on Cell Biology jointly with 5th Ukrainian Congress for Cell Biology (2-6 October 2016, Odesa, Ukraine), P. 39. 10. Куцяба В.І., Гончар М.В., Нево Е., Сибірний А.А. Біотехнологічні властивості клінічних ізолятів дріжджів-сахароміцетів та їх мейотичних сегрегантів на кукурудзяному суслі // Intern. Symposium on Cell Biology jointly with 5th Ukrainian Congress for Cell Biology (2-6 October 2016, Odesa, Ukraine), P. 58. 11. Стасюк Н., Закальський А., Закальська О., Гайда Г., Гончар М.В. Холо- і апо-форми рекомбінантної аргінази І людини як біоаналітичні інструменти // International scientific conference "Current problems of modern biochemistry" (16-18 November, 2016, Lviv, Ukraine). Вісник Львівського університету. - Вип. 73. - С.124. Патенти на корисну модель: 1. Патент України на корисну модель № 106834. Амперометричний хемосенсор для аналізу формальдегіду / Гончар М.В., Демків О.М., Гайда Г.З., Смуток О.В.

Номер заявки: u201510803. Публікація відомостей про видачу патенту: 10.05.2016, Бюл. № 9. 2. Патент України на корисну модель № 107543. Ензиматичний метод визначення вмісту L-аргініну в крові людини / Стасюк Н.Є., Гайда Г.З., Закальський А.Є., Закальська О.М., Гончар М.В. - Номер заявки: u2015112716. Публікація відомостей про видачу патенту: 10.06.2016, Бюл. № 11. 3. Патент України на корисну модель № 108773. Ензиматично-хімічний метод визначення вмісту L-аргініну в харчових продуктах та алкогольних напоях / Гайда Г.З., Стасюк Н.Є., Борецький Ю.Р., Фаюра Л.Р., Сибірний А.А., Гончар М.В. - Номер заявки: u201601804. Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2016, Бюл. № 14.

X. Заключні відомості

Керівник юридичної особи

Сибірний Андрій Андрійович
д. б. н., 03.00.07, 03.00.11

Перелік осіб-виконавців

Іваш М.Ф.

Гайда Г.З.

Демків О.М.

Закальська О.М.

Закальський А.Є.

Куцяба В.І.

Лаврик М.І.

Прокопів Т.М.

Синенька М.М.

Смуток О.В.

Стасюк Н.Є.

Відповідальний за підготовку облікових документів

Телефон

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності

