

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0409U004962

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 09-11-2009

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сіндаровська Яна Рудольфівна

2. Sindarovska Iana Rudolfivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.20

Назва наукової спеціальності: Біотехнологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 29-10-2009

Спеціальність за освітою: 7.070401

Місце роботи здобувача: Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Код за ЄДРПОУ: 04591245

Місцезнаходження: 03143, м. Київ-143, вул. Заболотного, 148

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 26.202.01

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Код за ЄДРПОУ: 04591245

Місцезнаходження: 03143, м. Київ-143, вул. Заболотного, 148

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 62.37

Тема дисертації:

1. Agrobacterium-опосередкована транзйентна експресія генів рекомбінантних білків (GFP, бета-глюкуронідази та інтерферону альфа 2b) в рослинах роду Nicotiana L.
2. Agrobacterium-mediated transient expression of genes of recombinant proteins (GFP, beta-glucuronidase and interferon alpha 2b) in plants of Nicotiana L. genus

Реферат:

1. Дисертація присвячена розробці протоколу отримання рекомбінантних білків шляхом Agrobacterium-опосередкованої транзйентної експресії відповідних трансгенів у рослинах. Метою роботи було розробити та оптимізувати умови для отримання рекомбінантних білків у рослинах методом Agrobacterium-опосередкованої транзйентної експресії. Об'єктом дослідження була Agrobacterium-опосередкована транзйентна експресія в рослинах. В роботі були використані методи: агроінфільтрація інтактних рослин, генетична трансформація рослин, молекулярно-біологічні методи, біохімічні та біофізичні методи визначення білків, іонообмінна хроматографія та метод титрування інтерферону. В результаті роботи вперше проведено відбір нових видів-продуцентів рекомбінантних білків серед рослин роду Nicotiana. Обрано види, в яких спостерігали високий вміст репортерного білка, отриманого в результаті транзйентної експресії

трансгену, при використанні різних типів векторних систем експресії (*N. cavicola*, *N. exigua* та *N. excelsior*). Вперше доведено, що найбільший вміст цільового білка спостерігали у 2му-6му або 2му-4му листках від апексу (в залежності від типу векторної системи) у дорослих рослин перед цвітінням. Показано, що вірусний супресор сайленсингу генів p19 підвищує вміст репортерного білка. Вперше доведено, що екзогенні фітогормони, метилжасмонат та інгібітори його біосинтезу не впливали на вміст цільового білка при транз'єнтній експресії. Вперше отримано трансгенні рослини *N. benthamiana* із кореневої культури "hairy roots" зі збільшеною біомасою (в умовах *in vitro*). Розроблено методику двох-стадійного очищення зеленого флуоресцентного білка. Методика дозволяє отримати 77% від початкової кількості білка з чистотою 85%. Вперше показано транз'єнтну експресію гена бета-глюкуронідази в рослинах видів *N. cavicola* та *N. excelsior*. А також показано можливість отримання біологічно-активного білка людини (лейкоцитарного інтерферону альфа 2b) в рослинах *N. excelsior* після транз'єнтної експресії трансгену. Результати роботи можуть бути використані при отриманні цільових білків важливих для медицини та фармакології шляхом транз'єнтної експресії трансгенів у рослинах.

2. The thesis focuses on protocol development for recombinant protein production by Agrobacterium-mediated transient expression of foreign genes in plants. The aim of the work was to develop and optimize conditions for the production of recombinant proteins in plants by Agrobacterium-mediated transient expression. A research object was Agrobacterium-mediated transient expression in plants. Following methods were used in the work: agroinfiltration of intact plants, genetic transformation of plants, molecular biological methods, biochemical and biophysical methods of protein determination, ion-exchange chromatography and interferon titration. As a result of the work for the first time new host species for recombinant proteins production among *Nicotiana* genus were selected. The plant species demonstrating high content of reporter protein obtained after transient expression of transgene inserted in different types of expression cassettes were chosen (*N. cavicola*, *N. exigua* and *N. excelsior*). For the first time it is proved that highest content of target protein was observed in the 2nd-6th or the 2nd-4th leaves from apex (depending on expression cassettes) in adult plants before flowering. It is shown that the viral suppressor of gene silencing p19 increases content of reporter protein. For the first time it is proved that exogenous phytohormones, methyljasmonate and inhibitors of its biosynthesis did not influence on the content of target protein after transient expression. For the first time the transgenic plants of *N. benthamiana* with increased biomass (*in vitro* conditions) were obtained from "hairy roots" culture. The method of the two-steps purification of green fluorescent protein was developed. A method allows for getting 77% yield of initial amount of protein with 85% purity. For the first time transient expression of beta- glucuronidase gene in *N. cavicola* and *N. excelsior* plant was demonstrated. Also the possibility of obtaining of biologically active human protein (leukocyte interferon alpha 2b) was shown in *N. excelsior* plants after transient expression. The results of research could be used for production of target proteins important for medicine and pharmacology by transient expression method in plants.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кучук Микола Вікторович
2. Kuchuk Mykola Viktorovich

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.11, 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Галкін Анатолій Павлович
2. Галкін Анатолій Павлович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.04, 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дубровна Оксана Василівна
2. Дубровна Оксана Василівна

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.15, 03.00.15

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Гродзинський Дмитро Михайлович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Гродзинський Дмитро Михайлович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Реєстратор

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Т.А.