Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0416U003234

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 31-05-2016

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Федорчук Вероніка Веніамінівна
2. Fedorchuk Veronika

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: 24-05-2016

Спеціальність за освітою: 7.04010209

Місце роботи здобувача: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: 04123, Україна, Київ-123, вул.Осиповського 2-а

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 26.254.01

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: Осиповського, 2А, м. Київ, Київська обл., 04123, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

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

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: 04123, Україна, Київ-123, вул.Осиповського 2-а

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 62.37.29

Тема дисертації:

1. Використання інгібіторів протеїнкіназ та протеїнфосфатаз для підвищення ефективності методу трансформації рослин за допомогою Agrobacterium tumefaciens

2. The application of inhibitors of protein kinases and phosphatases for the improvement of Agrobacterium tumefaciens-mediated plant transormation

Реферат/анотація:

1. У роботі представлено результати проведених досліджень впливу інгібіторів протеїнкіназ (трифлюоперазину, геністеїну, W7) та протеїнфосфатаз (отованадату натрію, кантаридину) на підвищення ефективності методу трансформації тютюну (N. tabacum) за допомогою A. tumefaciens. Досліджено широкий діапазон концентрацій інгібітору Ca2+ - кальмодулін залежної протеїнкінази трифлюоперазина (10-300 мкМ) та встановлено, що найбільш ефективного підвищення частоти Agrobacterium-опосередкованої трансформації листкових експлантів тютюну вдається досягти за умов його використання в концентраціях 10 та 25 мкМ (24-25%, відповідно). Проаналізовано вплив інгібітору Ca2+-кальмодулін-залежної протеїнкінази W7 в концентраціях від 25 до 100 мкМ і виявлено, що не дивлячись на відсутність впливу на частоту

генетичної трансформації його використання у концентрації 25 мкМ призводило до значного підвищення ефективності регенерації та швидкості росту рослин-регенерантів у порівнянні з контролем. Вивчено вплив інгібітору тирозинкіназ геністеїну в концентраціях від 10 до 100 мкМ на підвищення частоти Agrobacterium-опосередкованої трансформації листкових експлантів тютюну і встановлено, що найбільш ефективною концентрацією, яка виявляла позитивний ефект, була концентрація 100 мкМ (зростання частоти трансформації на 5-10% в залежності від тривалості ко-культивування). Досліджено вплив ортованадату натрію, інгібітору тирозинфосфатаз, у діапазоні концентрацій від 10 до 250 мкМ на частоту Agrobacterium-опосередкованої трансформації та встановлено, що при ко-культивуванні експлантів у присутності цього інгібітору протягом 48 год (200 та 250 мкМ) частота трансформації підвищувалась на 30 та 40%, відповідно. Перевірено вплив різних концентрацій інгібітору серин/треонінових протеїнфосфатаз кантаридину (0,1-1 мкМ) на частоту Agrobacterium-опосередкованої трансформації листкових дисків тютюну і встановлено, що в залежності від тривалості ко-культивування з цим інгібітором частота трансформації підвищувалась на 4-11%. За допомогою молекулярно-генетичного аналізу (ПЛР) підтверджено трансгенну природу ліній тютюну, отриманих шляхом Agrobacterium-опосередкованої трансформації при використанні усіх досліджуваних інгібіторів. Встановлено, що результати транзієнтної трансформації (аналіз експресії репортерного гена gus) співпадають з результатами стабільної трансформації. Отримані дані свідчать на користь того, що у регуляції Agrobacterium-опосередкованого переносу генів та їх інтеграції в рослинний геном важлива роль належить процесам фосфорилювання та дефосфорилювання білків, які знаходяться під контролем різних внутрішньоклітинних сигнальних систем.

2. The thesis is dedicated to the study of the effect of various inhibitors of protein kinases and protein phosphatases on Agrobacterium-mediated transformation of tobacco. The author describes the results of the evaluation of Agrobacterium-mediated transformation frequency of Nicotiana tabacum after application of a set of inhibitors concentrations. Using this approach, the most effective concentrations of each of the studied inhibitors that significantly increase the transformation frequency for each were determined. The influence of trifluoperazine, an inhibitor of serine-threonine protein kinases, on the frequency of Agrobacterium-mediated transformation of angiosperms was evaluated in a wide concentrations range from 10 to 300 μM using tobacco as a model object. It was shown that trifluoperazine at a concentration of 10 μM increased the frequency of Agrobacterium - mediated transformation of tobacco leaf discs by 25%. It should be emphasized that the present work is the first systematically study of the effect of Ca2+-calmodulin-dependent protein kinase inhibitor trifluoperazine on the frequency of Agrobacterium-mediated transformation of tobacco up to now. The effect of different concentrations of the serine-threonine protein kinases inhibitor W7 (from 25 to 100 μM) on the frequency of stable Agrobacterium - mediated transformation was investigated. It was shown that W7 at a concentration of 25 μM did not increase the transformation frequency, but significantly stimulated the growth rate of plants regenerants. The impact of tyrosine kinase inhibitor genistein in concentrations range from 10 to 100 μM on the frequency of stable Agrobacterium - mediated transformation of tobacco was studied. The effect of genistein depends on the time of co-cultivation: 10% increase of transformation was observed after 24 hours, while 48 hours of co-cultivation resulted in only 5% increase. On the next stage, we performed a study of protein phosphatases inhibitors sodium ortovanadat and cantaridin in our experimental settings. A concentrations range from 10 to 250 μM of sodium ortovanadat was tested. 200 and 250 μM of the inhibitor after 24 hours of co-cultivation provoked an increase of the stable Agrobacterium - mediated transformation frequency by 10 and 19%, respectively, while 48 hours of co-cultivation caused 30 and 40% of increase, correspondingly. Cantaridin was involved in the study at the range from 0.1 to 1 μM. 24 hours of co-cultivation with 0.1 and 0.5 μM of cantaridin induced the transformation frequency upregulation by 7 and 4%, respectively, followed by the further increase to 11 and 5%, correspondingly, after 48 hours. To confirm the transgenic origin of the regenerated plants we have carried out the polymerase chain reaction (PCR) to detect the gus reporter gene. 632 bp band which corresponds to the positive control (amplicon size using the pGH217 vector), was revealed in tested samples. The results of PCR verified the transfer, integration and expression of a reporter gene after transformation. Altogether, obtained results demonstrate that inhibitors of protein phosphorylation and dephosphorylation play an important role in Agrobacterium-mediated

transformation of plants and could be used as modulators of this process both upregulating and downregulating the frequency and efficiency of transformants generation and cultivation.

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. Ємець Алла Іванівна

2. Yemets A. I.

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. Белокурова Валерія Борисівна

2. Белокурова Валерія Борисівна

Кваліфікація: к.б.н., 03.00.20, 03.00.22

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. Циганкова Вікторія Анатоліївна
2. Циганкова Вікторія Анатоліївна

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.20, 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

Рецензенти

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Ємець Алла Іванівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Ємець Алла Іванівна
Відповідальний за підготовку облікових документів	
Реєстратор	

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності



Юрченко Т.А.