Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0408U002849

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 23-06-2008

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стасик Олена Георгіївна

2. Stasyk Olena Gergoiivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 03.00.11

Назва наукової спеціальності: Цитологія, гістологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 29-05-2008

Спеціальність за освітою: 7.070409

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: 03143, Україна, Київ-143, вул. Заболотного, 150

Форма власності:

Сфера управління: Президія Національної академії 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 молекулярної біології і генетики НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: 03143, Україна, Київ-143, вул. Заболотного, 150

Форма власності:

Сфера управління: Президія Національної академії наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.19.17

Тема дисертації:

1. Ідентифікація нових генів, що беруть участь у катаболітній регуляції у метилотрофних дріжджів Hansenula polymorpha

2. Identification of novel genes, involved in catabolite repression in the methylotrophic yeast Hansenula polymorpha

Реферат/анотація:

1. У дисертації подано результати генетичного, молекулярно-біологічного та ультра-структурного дослідження мутантів H. polymorpha з делетованими генами HpHXS1, HpHXT1, HpMIG1 та HpMIG2. Білкові продукти генів HpHXS1 та HpHXT1 є гомологами транспортерів та сенсорів гексоз інших видів дріжджів. Надекспресія HpHxt1, але не HpHxs1, у мутанта S. cerevisiae, не здатного до транспорту гексоз, відновлює транспорт глюкози та фруктози. Індукція експресії низькоафінного транспортера HpHxt1 у H. poly-morpha є залежною від функціонування нетранспортуючого сенсора HpHxs1. С-кінцевий цитоплазматичний домен HpHxs1 є необхідним для передачі глюкозного сигналу, а точко-ва мутація R203K конвертує цей сенсор в конститутивно сигналізуючу форму. Два гомологи катаболітного репресора Mig1 у H. polymorpha не є основними елемен-тами шляху передачі глюкозного сигналу до промоторів репресибельних генів. Однак, де-леція HpMIG1 та HpMIG2 впливає на тип пексофагії, пошкоджуючи макропексофагію та індукуючи

мікропексофагію. Ключові слова: метилотрофні дріжджі, катаболітна регуляція, глюкозна репресія, транспорт глюкози, сенсінг глюкози.

2. The thesis discribes results of genetic, molecular-biological and ultrastuctural analysis of the mutants of H. polymorpha with deleted HpHXS1, HpHXT1, HpMIG1 and HpMIG2 genes. We identified in the methylotrophic yeast H. polymorpha a novel hexose transporter homo-logue, HXS1 (HeXose Sensor), involved in transcriptional regulation in response to hexoses, and a regular hexose carrier HXT1 (HeXose Transporter). The Hxs1 protein exhibits the highest degree of primary sequence similarity to the S. cerevisiae transporter-like glucose sensors, Snf3 and Rgt2. When heterologously overexpressed in S. cerevisiae hexose transporter-less mutant, Hxt1, but not Hxs1, restores growth on glucose or fructose, suggesting that Hxs1 is non-functional as a carrier. In its native host, HXS1 is expressed at moderately low level and is required for glucose induction of the H. polymorpha functional low-affinity glucose transporter Hxt1. Similarly to other yeast sensors, one conserved amino acid substitution in the Hxs1 sequence(R203K) con-verts the protein into a constitutively signaling form and the C-terminal region of Hxs1 is essen-tial for its function in hexose sensing. Hxs1 is not required for glucose repression or catabolite in-activation that involves autophagic degradation of peroxisomes. However, HXS1 deficiency leads to significantly impaired transient transcriptional repression in response to fructose, probably due to the stronger defect in transport of this hexose in the hxs1delta deletion strain. Our combined re-sults suggest that in the Crabtree-negative yeast H. polymorpha the single transporter-like sensor Hxs1 mediates signaling in the hexose induction pathway, whereas the rate of hexose uptake af-fects the strength catabolite repression. Peroxisomes in the methanol-utilizing yeast H. polymorpha are dispensable for growth on rich carbon sources, such as glucose and sucrose. These substrates and ethanol trigger both, the repression of peroxisomal enzymes at the transcriptional level and rapid and selective degradation of methanol-induced peroxisomes via a process termed pexophagy. How the signal transduction proceeds from the substrate-effectors to its different downstream targets, e.g. transcriptional rep-ressors and autophagy machinery, remains largely unknown. In S. cerevisiae, the glucose-regulated transcriptional repressor Mig1 interacts with the gen-eral repressor complex Tup1-Ssn6 to confer repression of many target genes. In this report we demonstrate that deficiency in the putative H. polymorpha homologues of Mig1 (HpMig1 and HpMig2), as well as HpTup1, partially and differentially affects the repression of peroxisomal al-cohol oxidase by sugars and ethanol. As reported earlier, deficiency in HpTup1 leads to impair-ment of glucose- or ethanol induced macropexophagy. In H. polymorpha mig1mig2 double dele-tion cells, macropexophagy was also largely impaired, whereas micropexophagy became a domi-nant mode of autophagic degradation. Our findings suggest that homologues of the elements of the S. cerevisiae main repression pathway have pleiotropic functions in H. polymorpha. H. polymorpha mutant EAO2 defective in glucose repression was utilized in our study as the host for expression of recombinant secreted form of A. niger GO under control of alcohol oxidase promotor (PMOX). We demonstrated that wilde type producer yielded GO only in methanol me-dium, while EAO2-G or its derivative EAO172-G produced GO also on glucose. GO synthesis in EAO2 producer was repressed in the presence of sucrose or ethanol. Our data suggest that GO synthesis in mutants impaired in glucose repression is efficient in the absence of methanol and strictly regulated by carbon sources, similarly to synthesis of native AO. It could be envisaged that glucose-induced expression of other recombinant proteins, including those of biotechnologi-cal importance, under PMOX in EAO mutants, or in constructed by us gcr1 hxs1 strain may be comparable or exceed that in methanol-grown wild-type cells. These results may add in further improvement of H. polymorpha-based expression platform for recombinant proteins. Key words: methylotrophic yeast, catabolite regulation, glucose repression, glucose trans-port, glucose sensing.

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. Сибірний Андрій Андрійович
2. Sibirny Andriy Andriyovych

Кваліфікація: д.б.н., 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

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кучук Микола Вікторорвич
2. Кучук Микола Вікторорвич

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.15, 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. Варбанець Людмила Дмитрівна

2. Варбанець Людмила Дмитрівна

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.07

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.