Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0421U100154

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 19-01-2021

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Криніна Ольга Ігорівна

2. Krynina Olha I.

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.04

Назва наукової спеціальності: Біохімія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 18-01-2021

Спеціальність за освітою: молекулярна біотехнологія

Місце роботи здобувача: Інститут біохімії ім. О. В. Паладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, м. Київ, Київська обл., 01054, Україна

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 26.240.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Паладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, м. Київ, Київська обл., 01054, 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: Інститут біохімії ім. О. В. Паладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, м. Київ, Київська обл., 01054, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 31.27

Тема дисертації:

1. Біологічна роль гепарин-зв'язувальної ділянки в структурі гепарин-зв'язувального EGF-подібного фактору росту.

2. Biological role of heparin-binding site in the structure of heparin-binding EGF-like growth factor.

Реферат/анотація:

1. Дисертаційна робота присвячена дослідженню ролі гепарин-зв'язувального домену у структурі HB EGF людини та його значення для забезпечення біологічної активності ростового фактору, а саме рецепції дифтерійного токсину та утворення комплексів секреторної форми з EGFR і їх подальшої інтерналізації. З використанням повнорозмірної та вкороченої (з делецією гепарин-зв'язувального домену) форм рекомбінантного sHB-EGF показано більш пізню інтерналізацію sHB-EGF, порівняно зі вкороченою формою. Методом вестерн-блот аналізу лізатів клітин A431, стимульованих повнорозмірним чи вкороченим sHB-EGF показано, що відсутність взаємодії sHB-EGF з ГСПГ викликає більш раннє фосфорилювання EGFR, проте воно є менш Було створено генетичні конструкції, що кодують флуоресцентно-мічений proHB-EGF та sHB-EGF дикого типу та з двома типами мутацій: амінокислотними замінами позитивно-заряджених амінокислот на

аланін та делецією всієї ділянки. було проведено оцінку зв'язування різними формами sHB-EGF похідного ДТ – субодиниці B (SbB) – методом імуноензимного аналізу та Виявлено, що sHB-EGF з делецією гепарин-зв'язувальної ділянки мало більше значення Кд, порівняно з нормальною чи мутованою формою ростового фактору. На основі клітин MDA MB 231 за допомогою системи CRISPR/Cas9 було створено сублінію з відсутньою експресією HB-EGF. Створені генетичні конструкції, що кодують proHB-EGF з мутаціями і без них, використовувались для трансфекції клітин MDA MB 231HB EGF(-). Вперше було продемонстровано внутрішньоклітинний транспорт рекомбінантого похідного ДТ спільно з proHB EGF з мутованим гепарин-зв'язувальним доменом. Також було виявлено, що асоціація proHB-EGF з ГСПГ на поверхні клітини зменшувала стабільність комплексу з похідним ДТ, ймовірно, через конформаційні перебудови всередині самої молекули ростового фактору. В рамках цієї дисертаційної роботи також було отримано HB-EGF-нейтралізуючі поліклональні антитіла та протестовано їх антипроліферативний ефект на клітини лінії A431.

2. The purpose of this thesis was to investigate the role of the heparin-binding domain in the structure of human HB-EGF and its importance for the biological activity of growth factor, namely the binding of diphtheria toxin and the formation of sHB-EGF complexes with EGFR and their subsequent internalization. Using full-length and truncated (with deletion of the heparin-binding domain) forms of recombinant sHB-EGF, it has been shown later internalization of sHB-EGF, compared to the truncated form. Western blot analysis of A431 cell lysates stimulated with full-length or truncated sHB□EGF showed that the lack of interaction of sHB-EGF with HSPGs causes earlier phosphorylation of EGFR, but it is less potent and prolonged. To investigate the role of the heparin-binding domain in the reception of diphtheria toxin (DT), we created genetic constructs encoding fluorescently labeled proHB-EGF and wild-type sHB-EGF and with two types of mutations: amino acid substitutions of positively charged amino acids to alanine and the whole domain deletion. sHB-EGF various forms binding of derivative DT - subunit B (SbB) - was assessed by enzyme-linked immunosorbent assay. It was found that sHB□EGF with deletion of the heparin-binding site had a higher Kd value compared to the normal or mutated form of growth factor. Using MDA-MB-231 cells and the CRISPR/Cas9 system subline with the lack of HB-EGF expression was created. Genetic constructs encoding proHB-EGF with and without mutations were used for MDA-MB-231HB-EGF(-) cell transfection. Intracellular transport of a recombinant DT derivative mediated by proHB-EGF with a mutated heparin-binding domain was demonstrated for the first time. It was also found that the association of proHB-EGF with HSPGs on the cell surface reduced the stability of the complex with the DT derivative, probably due to conformational rearrangements within the growth factor molecule itself. Within this dissertation, HB-EGF-neutralizing polyclonal antibodies were also obtained and their antiproliferative effect on A431 cells was tested.

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. Колибо Денис Володимирович

2. Kolybo Denys V.

Кваліфікація: д. б. н., 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. Толстанова Ганна Миколаївна

2. Tolstanova Hanna M

Кваліфікація: д. б. н., 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. Хоруженко Антоніна Іванівна

2. Khoruzenko Antonina I

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тихомиров Артем Олександрович
2. Tychomyrov Artem Olexandrovyh

Кваліфікація: к. б. н., 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. Хоруженко Антоніна Іванівна
2. Khoruzhenko Antonina I.

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Костерін Сергій Олексійович
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Костерін Сергій Олексійович
Відповідальний за підготовку облікових документів	
Реєстратор	
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Т.А.