

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0418U002874

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 11-07-2018

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



## II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дробот Катерина Олександрівна

2. Drobot Kateryna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 05-07-2018

Спеціальність за освітою: генетика

Місце роботи здобувача:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** К 26.202.01

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

**Код за ЄДРПОУ:** 04591245

**Місцезнаходження:** Академіка Заболотного, 148, Київ, Київська обл., 03143, 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 клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

**Код за ЄДРПОУ:** 04591245

**Місцезнаходження:** Академіка Заболотного, 148, Київ, Київська обл., 03143, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:**

**Тема дисертації:**

1. Культура трансгенних коренів рослин роду *Artemisia* як джерело біологічно активних сполук
2. "Hairy" root culture of *Artemisia* spp. plants as a source of biologically active compounds

**Реферат:**

1. У роботі наведено результати з оптимізації методики *A. rhizogenes*-опосередкованої трансформації рослин *Artemisia annua*, *A. dracunculoides* та *A. vulgaris*, отримання «бородатих» коренів цих рослин, визначення вмісту природних для рослин цих видів біологічно активних сполук (фруктанів, цукрів, інуліну, флавоноїдів) та визначено перспективу використання культури «бородатих» коренів цих рослин у якості джерела БАС. Використані у роботі рослини було введено в асептичну культуру шляхом поверхневої стерилізації насіння. Генетичну трансформацію цих рослин було проведено за допомогою *A. rhizogenes*. Визначено вміст біологічно активних сполук (флавоноїдів, фруктанів, цукрів та артемізиніну) та біологічну активність (антиоксидантну та противірусну) екстрактів «бородатих» коренів та коренів нетрансформованих рослин. Отримані результати свідчать про те, що генетична трансформація з використанням *A. rhizogenes* може бути використана для отримання культур «бородатих» коренів *A. annua*, *A. dracunculoides* та *A. vulgaris*, які є

потенційними продуцентами біологічно активних сполук, у тому числі флавоноїдів, артемізиніну та фруктанів. Було показано можливість збільшення вмісту фруктанів (*A. annua* та *A. dracunculus*), артемізиніну (*A. vulgaris*), флавоноїдів (*A. annua* та *A. vulgaris*) у трансгенних коренях; виявлено здатність трансформованих коренів до синтезу нехарактерних для контрольних коренів цукрів: манітолу (*A. vulgaris*) та галактози (*A. dracunculus*); встановлено збільшення рівня протирадикальної активності у трансформованих коренях полину; уперше показано можливість отримання «бородатих» коренів полину з геном синтезу інтерферону людини *ifn- $\alpha$ 2b* та визначено противірусну активність отриманих з них екстрактів.

2. This work presents results of the study devoted to optimization of *Agrobacterium rhizogenes*-mediated genetic transformation and “hairy” roots obtaining of *Artemisia vulgaris* L., *A. annua* L., *A. dracunculus* L. plants. The accumulation of biologically active compounds in roots of these plants and the usage prospect of “hairy” root cultures as a source of biologically active compounds were also reviewed. *A. vulgaris*, *A. annua* and *A. dracunculus* plants were introduced into aseptic culture via surface sterilization method using chlorine bleach. It was shown that this approach was effective and resulted in germination of up to 100% seeds. We optimized micropropagation conditions and have shown that cultivation of studied plants on MS medium supplemented with 0,5 mg/l BAP and 0,05 mg/l NAA have led to accelerated shoots formation. Genetic transformation of studied plants was carried out using *A. rhizogenes* A4 wild strain, as well as those which carried pCB 161 or pCB 124 vectors. The morpho-physiological peculiarities (such as growth rate) of “hairy” root cultures were studied. The effect of exogenous growth regulators on root growth was determined. The content of biologically active compounds (such as flavonoids, fructans, inulin, sugars and artemisinin) in *Artemisia* “hairy” roots and biological activity (antioxidant and antiviral activities) of their extracts were determined. Our results suggest that *Agrobacterium*-mediated genetic transformation can be used for *A. annua*, *A. dracunculus* and *A. vulgaris* “hairy” roots obtaining. The latter could be used as a source of biologically active compounds, including flavonoids, artemisinin and fructans. We particularly showed the possibility of the increase in the content of fructans (for *A. annua* and *A. dracunculus*), artemisinin (for *A. vulgaris*) and flavonoids (for *A. annua* and *A. vulgaris*) in transgenic roots. We observed a content increase of flavonoids only in some *A. annua* and *A. vulgaris* transgenic lines. At the same time *A. dracunculus* “hairy” roots accumulated flavonoids less than control roots. It was determined that after genetic transformation of *A. vulgaris*, 40% of the “hairy” root lines had higher content of this compound as compared to control, other 40% of lines didn't shown a significant change in its content, and in last 20% of lines a decrease in the content of artemisinin was observed. The contents of artemisinin in *A. annua* and *A. dracunculus* “hairy” roots were lower than in the roots of non-transformed plants. The increased accumulation of fructans in *A. annua* and *A. dracunculus* “hairy” roots as compared to the control ones was observed. However, the contents of these compounds in *A. vulgaris* “hairy” roots were lower than such in the roots of non-transformed plants. Accordingly, the highest fructans content – 183,1 $\pm$ 1,05 and 160,8 $\pm$ 2,81 mg/g of DW – was observed in *A. dracunculus* and *A. annua* transgenic lines respectively, and the lowest – 48,01 $\pm$ 11,18 mg/g of DW – in *A. vulgaris* “hairy” roots. Moreover, we showed the ability of transformed roots to accumulate compounds, which were not inherent for control roots, such as mannitol (in *A. vulgaris*) and galactose (in *A. dracunculus*). We also observed increased antiradical activity of *Artemisia* “hairy” root extracts. The ability of transgenic roots extracts to reduce DPPH+ radical varied in the wide range from 22 $\pm$ 4,2 up to 93 $\pm$ 5%. It has been shown that extracts of transgenic roots, which were carrying the human *ifn- $\alpha$ 2b* gene also possessed antiviral activity. *A. vulgaris* and *A. annua* “hairy” root lines were significantly different in their interferon-like activity, which varied in range 642-1,414 IU/g of fresh weight. The highest activity was observed in extracts from two lines of *A. vulgaris* transgenic roots and two lines of *A. annua* –1414 and 1212 IU/g of fresh weight, respectively. It appeared, that some lines of *A. vulgaris* and *A. annua* “hairy” roots showed the highest growth rates, while *A. dracunculus* “hairy” roots characterized by the slow growth rate. The variability of this parameter within each species was statistically significant and did not depend on the vector used. For all studied “hairy” root, the use of 0.5 mg/l of indolylacetic or indolylbutyric acids accelerates the root growth and increases the mass gain. This is the first report of the *Artemisia* “hairy” root culture, which was established using agrobacteria with the human *ifn- $\alpha$ 2b* gene and which extracts possessed an antiviral activity.

