Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0413U005876

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 04-11-2013

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Жукова Анастасія Іванівна

2. Zhukova Anastasiia Ivanivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 03.00.20

Назва наукової спеціальності: Біотехнологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 29-10-2013

Спеціальність за освітою: 8.070403

Місце роботи здобувача: КНУ імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології"

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: пр. Академіка Глушкова, 2

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д26.237.01

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: КНУ імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології"

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: пр. Академіка Глушкова, 2

Форма власності:

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 62.13.99

Тема дисертації:

1. Розробка технологічних підходів для хроматографічного отримання біологічно активних компонентів з отрути змій роду Gloydius

2. Technological approaches development for biologically active compounds chromatographic purification from Gloydius venom

Реферат/анотація:

1. Дисертація присвячена розробці технологічного способу отримання інгібітора агрегації тромбоцитів та кислої фосфоліпази А2 з отрути змії Gloydius (G.) blomhoffii brevicaudus, за умови його інтеграції в один цикл загальної технології переробки отрути. Розроблено нові методи вхідного контролю отрути щитомордників, які ефективно визначали біологічно активні компоненти в її складі. Вперше показана наявність активатору протромбіну в отруті A. blomhoffii ussuriensis. Доказано, що отрута G. blomhoffii brevicaudus є придатною сировиною для виробництва фібрино(гено)літичних ферментів, тромбіноподібного ферменту, активаторів протеїну С та протромбіну, інгібітору агрегації тромбоцитів та фосфоліпази А2. Розроблені експериментальні підходи для ефективного розділення складних сумішей білків методом іонообмінної хроматографії. Показано, що, в супереч існуючим уявленням, зменшення співвідношення геометричних параметрів шару сорбенту (діаметр до висоти), дозволяє досягти високого ступеня розділення близьких за фізико-хімічними

властивостями білків. Вперше отримані високоочищені інгібітор агрегації тромбоцитів і фосфоліпаза А2 із отрути щитомордника G. blomhoffii brevicaudus, досліджені фізико-хімічні властивості і особливості біологічної дії отриманих білків. Показано, що загальна цитотоксичність отрут різних видів щитомордників може бути використана як характеристика для вхідного контролю.

2. Dissertation is devoted to development of technique for platelet aggregation inhibitor and acid phospholipase A2 obtaining from Gloydius (G.) blomhoffii brevicaudus venom, with condition of its integration into one cycle of the general venom processing technology. Manufacturing of pharmaceutical products based on snake venom biologically active compounds requires incoming quality control because of the diversity of venom composition. At the same time, opposite functions of target proteins in the mixture complicate their identification. We developed new methods for incoming quality control for effective identification of biologically active compounds in Gloydius snake venom. Using the method, we provided comparative characteristic for venoms of several Gloydius species. Prothrombin activator was found in A. blomhoffii ussuriensis venom for the first time. Manufacturing incoming quality control of G. blomhoffii brevicaudus venom proved it to be a source for fibrino(geno)lytic enzyme, thrombin-like enzyme, protein C and prothrombin activators, platelet aggregation inhibitor and acid phospholipase A2 production. For the effective production of these proteins, it was targeted to purify all of them in one cycle of venom processing technology. This study describes development of obtaining method for platelet aggregation inhibitor and acid phospholipase A2 integrated to the general technology used. Processing of complex protein mixtures requires separation of proteins with similar physical - chemical characteristics. We developed experimental techniques for effective fractionation of such molecules with ion exchange chromatography. In the result of 15 different variants of ion exchange separation, we revealed optimal process conditions for separation of several biological active compounds from snake venom. It was shown, that contrary to the existing conceptions, decrease of the ratio of sorbent layer geometric parameters (diameter to height) increases effectiveness for separation of proteins with similar physical - chemical characteristics. Obtained results are important for complex manufacturing technologies development for multi-protein/peptide mixtures. Furthermore, highest possible protein separation achieved in the minimal sorbent layer in industrial applications is used for step-gradient elution calculations. Using received data we developed a new chromatographic method for obtaining of highly purified platelet aggregation inhibitor and acid phospholipase A2 from G. blomhoffii brevicaudus venom. The method integrated into general venom processing technology including several other proteins purification, such as fibrino(geno)lytic enzyme, thrombin-like enzyme and protein C activator. Physical - chemical properties of purified platelet aggregation inhibitor and acid phospholipase A2 were investigated with 1D-, 2D-electrophoresis and MULDI-TOF mass spectrometry. Obtained platelet aggregation inhibitor was a single chain protein with molecular weight - 12,00 kDa, isoelectric point - 8.03, effectively inhibiting ADP-induced platelet aggregation with IC50% = 3.26?10-6 g or 5,42?10-10 M and exposing no enzymatic activity. Purified phospholipase A2 has molecular weight - 13,76 kDa, isoelectric point - 4.17, pH optimum - 8.5, activity - 2876 IU?mg of protein, dose-dependently inhibiting ADP-induced platelet aggregation with IC50% = 6,85 ?10-6 g +or 1?10-9 M and showing strong toxic effect on PC-12 cell line. General cytotoxity of Gloydius venoms correlated with phospholipase A2 content and could be used as a characteristic for incoming quality control.

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. Волков Георгій Леонідович
2. Volkov Georgii Leonidovych

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

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кордюм Віталій Арнольдович
2. Кордюм Віталій Арнольдович

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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Верьовка Сергій Вікторович

2. Верьовка Сергій Вікторович

Кваліфікація: д.б.н., 02.00.10

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 — Єльська Ганна Валентинівна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні — Єльська Ганна Валентинівна

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності — Юрченко Т.А.