Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0421U100279

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 12-02-2021

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Василишин Роксолана Василівна

2.

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.07

Назва наукової спеціальності: Мікробіологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 27-01-2021

Спеціальність за освітою: Генетика

Місце роботи здобувача: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, м. Львів, Львівська обл., 79005, 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 35.246.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, м. Львів, Львівська обл., 79005, 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 біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, м. Львів, Львівська обл., 79005, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.27

Тема дисертації:

1. Конструювання поліпшених продуцентів етанолу та глутатіону у дріжджів Ogataea polymorpha

2. Construction of improved ethanol and glutathione producers in yeast Ogataea polymorpha

Реферат/анотація:

1. Дисертація присвячена отриманню штамів дріжджів O. polymorpha з підвищеним рівнем продукції етанолу з ксилози та штамів з підвищеним вмістом внутрішньоклітинного глутатіону. З метою підвищення питомої швидкості поглинання ксилози та зниження спорідненості до глюкози, вперше було створено модифіковану форму транспортера Hxt1 O. polymorpha шляхом заміни аспарагіну на аланін в положенні 358. Крім того, залишки лізину на N-кінці Hxt1, що є потенційними сайтами убіквітинування, було замінено на залишки аргініну для запобігання швидкої деградації транспортера. Здійснено посилення експресії генів, що кодують пероксисомні ферменти транскетолазу Das1 (дигідроксиацетонсинтаза) та трансальдолазу Tal2 в геномі рекомбінантного штаму O. polymorpha з покращеними параметрами алкогольної ферментації ксилози. Встановлено, що внаслідок посилення експресії генів DAS1 і TAL2 продукція етанолу з ксилози зростає на 30%. Завдяки додатковому посиленню експресії гена MET4 в попередньо сконструйованому штамі із

посиленою експресією гена GSH2, вдалося підвищити вміст внутрішньоклітинного глутатіону в штамах O. polymorpha в 5 разів порівняно із штамом дикого типу. Отримані результати свідчать про залучення транскрипційного фактора Met4 в регуляцію біосинтезу глутатіону у дріжджів O. polymorpha.

2. The dissertation is devoted to the development and application of metabolic engineering approaches that provide obtaining Ogataea polymorpha strains with improved efficiency of ethanol production from xylose and increased glutathione production. To increase the specific xylose uptake rate and decrease affinity to glucose the modified Hxt1 was engineered in O. polymorpha by substitution of asparagine to alanine at position 358. Furthermore, N-terminal lysine residues of Hxt1 predicted to be the target of ubiquitination were replaced for arginine residues [Nijland et al., 2014; Nijland et al., 2016]. The modified versions of Hxt1 were overexpressed in hxt1Δ O. polymorpha mutant and the efficiency of xylose and glucose co-utilization during high-temperature xylose fermentation was studied. The kinetics of consumption of both sugars during mixed sugar fermentation with different ratio of xylose and glucose was observed. The retention of the mutated Hxt1 versions at the cytoplasmic membrane was studied using fluorescent reporter GFP and compared to the native one. The modified version of Hxt1 able to improve efficiency of glucose and xylose co-consumption was integrated into genome of the available O. polymorpha recombinant strain with improved ethanol production during high-temperature alcoholic fermentation [Vasylyshyn et al., 2020]. In this study genes encoding the peroxisomal enzymes transketolase Das1 and transaldolase Tal2 were overexpressed in the best obtained O. polymorpha recombinant strain with improved parameters of xylose alcoholic fermentation. The productivity of ethanol synthesis in the obtained strains was studied during alcoholic fermentation and it was shown that overexpression of DAS1 and TAL2 genes leads to the improvement of ethanol production from xylose by 30%, reaching 16 g/L ethanol [Kurylenko et al., 2018]. Thermotolerant methylotrophic yeast O. polymorpha with naturally high glutathione content and resistance to various types of stress are also considered as promising strains for genetic modification and construction of a competitive producer of this tripeptide. The GSH2 gene encodes the first enzyme of glutathione biosynthesis in yeast O. polymorpha [Ubiyvovk et al., 2002]. The overexpression of GSH2 gene due to multicopy integration or under control of a strongly regulated promoter of alcohol oxidase results in improvement of glutathione production in the yeast O. polymorpha [Ubiyvovk et al., 2011a]. Additional expression of the MET4 gene, which is involved in the regulation of sulfate assimilation in sulfur-containing amino acids, led to increase of the intracellular glutathione by 5 times as compared to the wild-type strain, reaching 2167 mg/L. A strain with overexpressed GSH2 and MET4 genes was able to produce 5 times more glutathione as compared to a strain with overexpression only of GSH2 gene during cultivation for 25 hours in a bioreactor. Data of this study show the importance of MET4 gene coding for transcription activator involved in sulfur metabolism in yeasts for regulation of glutathione biosynthesis in O. polymorpha [Yurkiv et al., 2018]. Obtained results are important for understanding the genetic control of xylose metabolism in yeast, and can be used to further increase the efficiency of alcoholic fermentation. In addition, the results show the construction of O. polymorpha strain, which is characterized by one of the best level of glutathione production as compared to the known yeast producers of this tripeptide and indicate the importance of glutathione for high-temperatures xylose alcoholic fermentation.

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., 03.00.07

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. Осташ Богдан Омелянович

2. Ostash Bohdan O.

Кваліфікація: д. б. н., 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. Корнійчук Олена Петрівна

2. Корнійчук Олена Петрівна

Кваліфікація: д.мед.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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Осташ Богдан Омелянович

2. Ostash Bohdan O.

Кваліфікація: д. б. н., 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. Федорович Дарія Василівна

2. Федорович Дарія Василівна

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

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Сибірний Андрій Андрійович
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Стойка Ростислав Степанович
Відповідальний за підготовку облікових документів	
Реєстратор	
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Т.А.