Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U002865

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 16-08-2024

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шадріна Руслана Юріївна

2. Ruslana Y. Shadrina

Кваліфікація: 091

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5666-5034

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Біотехнологія, Молекулярна генетика, Цитологія, клітинна біологія, гістологія

Дата захисту: 02-10-2024

Спеціальність за освітою: генетика

Місце роботи здобувача: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: вул. Байди-Вишневецького, буд. 2-а, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): PhD 6806

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: вул. Байди-Вишневецького, буд. 2-а, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: вул. Байди-Вишневецького, буд. 2-а, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.03.02, 89.15.02

Тема дисертації:

1. Роль аутофагії у відповіді Arabidopsis thaliana на вплив мікрогравітації та участь мікротрубочок в опосередкуванні цього процесу

2. The role of autophagy in the response of Arabidopsis thaliana to microgravity conditions and the participation of the microtubules in mediating this process

Реферат:

1. Дослідження присвячене аналізу процесів аутофагії в рослинах Arabidopsis thaliana під впливом мікрогравітації з особливим акцентом на ролі мікротрубочок. Аутофагія як внутрішньоклітинний механізм деградації та рециркуляції макромолекул і органел виступає ключовим фактором в адаптації рослин до стресових умов. На сьогодні вивчення фізіологічної ролі аутофагії при стресі є однією з актуальних проблем біології, оскільки в залежності від ступеня пошкодження клітин цей процес може сприяти або виживанню, або загибелі клітин. Тому у даному дослідженні зосереджено увагу на вивченні розвитку процесів аутофагії, а також ролі цитоскелету, зокрема мікротрубочок, у рослин в умовах зміненої гравітації. Вивчення адаптації рослин до зміненої гравітації є ключовим для розвитку систем життєзабезпечення в космосі. Нещодавно

було показано, що Arabidopsis thaliana та інші види рослин можуть розвиватися та давати урожай насіння у космічних умовах, проте за таких умов розвитку вони зазнають певних молекулярних змін [1, 2]. Дослідження адаптації рослин за участю аутофагії в змодельованих умовах є надзвичайно актуальним, оскільки дає змогу створити фундамент для подальших космічних досліджень із вирощуванням рослин, а далі – для отримання продуктів харчування в умовах зміненої гравітації. Як матеріал досліджень використовували рослини A. thaliana екотипу Columbia Col-0 та адві трансгенні лінії A. thaliana: GFP-ATG8a та GFP-MAP4. Стресові умови моделювали за допомогою кліностату, на якому вирощували рослини (режим обертання 4 об/хв). Використання кліностату дозволяє імітувати умови мікрогравітації, що є важливим для дослідження адаптаційних механізмів рослин. Візуалізацію аутофагосом здійснювали за допомогою лазерної конфокальної мікроскопії. Цей метод дозволяє отримати детальні зображення внутрішньоклітинних структур та процесів, що є ключовим для аналізу аутофагії. За допомогою молекулярно-генетичних методів оцінювали експресію генів білків ATG, □- і □-тубулінів в досліджуваних рослинах. Ці методи дозволяють кількісно оцінити рівні експресії генів та виявити зміни, які виникають під впливом мікрогравітації. Було проаналізовано вплив мікрогравітації на ріст та розвиток проростків A.thaliana. У результаті проведених досліджень нами було виявлено, що кліностатування не впливало на проростання насіння, а також не викликало суттєвих відхилень у морфології пагонів проростків. Затримка в розвитку пагонів спостерігали лише на 6-ту та 9-ту добу кліностатування, на 12-ту добу пагони практично морфологічно не відрізнялися від контрольних рослин. Також 12-денні проростки мали правильну листкову розетку, яка складалася з 4–6 овальних зелених листків. У той же час проростки, що зростали в експериментальних умовах, на відміну від контролю мали дезорієнтований ріст коренів, що було наслідком постійної зміни вектора сили тяжіння. При аналізі морфології та розвитку головних коренів проростків були виявлені відмінності в їх зонах росту. Зокрема, зони розтягу та перехідна були коротшими за умов кліностатування в порівнянні із контрольними рослинами. Кількісний аналіз середньої площі епідермальних клітин в перехідній зоні показав незначні відмінності (менше на 29 %) у розмірах досліджуваних рослин порівняно із контролем. Також було проаналізовано кут гравітропічного нахилу (GSA). Результати показали значне збільшення GSA у проростків A. thaliana в умовах кліностатування, що свідчить про відхилення від нормальної вертикальної орієнтації коренів, як, наприклад, у контролі. Методами флуоресцентної та конфокальної лазерної скануючої мікроскопії було проведено дослідження розвитку стрес-індукованої аутофагії на морфологічному рівні. Виявлено характерні ознаки розвитку аутофагії під впливом мікрогравітації, зокрема збільшення кількості аутофагосом у клітинах кореня. За допомогою флуоресцентного барвника MDC було виявлено появу структур розміром від 3 до 20 мкм, що свідчить про активний розвиток аутофагії під впливом стресових умов мікрогравітації. Отримані результати за використання барвника LTR та трансгенної лінії A. thaliana (GFP-ATG8a) в обох випадках показали індукцію аутофагії та максимальний рівень утворення аутофагосом у епідермальних клітинах кореня перехідної зони рослин A. thaliana після 6-ти діб культивування. Визначено кількість аутофагосом за допомогою трансгенної лінії A. thaliana GFP-ATG8a. Результати показали значне збільшення кількості аутофагосом у клітинах, що знаходилися під впливом мікрогравітації, що свідчить про активацію аутофагії як захисного механізму. На 6-ту добу вирощування спостерігалася найбільш суттєва зміна кількості аутофагосом (більше ніж у 2 раза) порівняно з контролем, хоча на 9-ту добу кількість аутофагосом зменшилася у клітинах перехідної зони кореня, їх було все одно більше, ніж у контрольних рослинах. На 12-ту добу вирощування кількість аутофагосом у клітинах коренів рослин в умовах кліностатування була подібною до контрольних рослин.

2. The research is dedicated to the analysis of autophagy processes in Arabidopsis thaliana plants under the influence of microgravity, with a particular focus on the role of microtubules in this process. Autophagy, as an intracellular mechanism of degradation and recycling of macromolecules and organelles, is a key factor in the adaptation of plants to various stress conditions. Currently, studying the physiological role of autophagy under stress is one of the actual problems of biology, as depending on the degree of cell damage, this process can either contribute to survival or cell death. Therefore, the scientific work focuses on the induction of autophagy processes under conditions of altered gravity. Studying plant adaptation to microgravity is key for developing life support

systems in space. Recent experiments have shown that Arabidopsis thaliana and other species can develop and yield seeds in space conditions, however, they undergo molecular changes. Researching plant adaptation involving autophagy in simulated space conditions is extremely important, as it allows creating a foundation for further space research in plant cultivation, and subsequently food production in altered gravity conditions. A. thaliana plants of the Columbia Col-0 ecotype and two transgenic lines of A. thaliana were used as research material: GFP-ATG8a and GFP-MAP4. Stress conditions were modeled using a clinostat on which the plants were grown (4 rpm rotation mode). The use of a clinostat allows to simulate microgravity conditions, which is important for the study of plant adaptation mechanisms. Autophagosomes were visualized using laser confocal microscopy. This method allows to obtain detailed images of intracellular structures and processes, which is key for the analysis of autophagy. Molecular genetic methods were used to evaluate the gene expression of ATG, □- and □-tubulin proteins in the studied plants. These methods allow us to quantify gene expression levels and identify changes that occur under the influence of microgravity. It was analyzed the effect of microgravity on the growth and elongation of A. thaliana seedlings. As a result of our studies, we found that wedge-statement did not affect seed germination and did not cause significant deviations in the morphology of seedling shoots. Delayed shoot development was observed only on the 6th and 9th day of wedging, and on the 12th day the shoots were practically morphologically indistinguishable from control plants. Also, 12-day-old seedlings had a regular leaf rosette consisting of 4-6 oval green leaves. At the same time, seedlings growing under experimental conditions, unlike the control, had disoriented root growth, which was a consequence of a constant change in the gravity vector. The analysis of the morphology and development of the main roots of seedlings revealed differences in their growth zones. In particular, the tensile and transitional zones were shorter under wedging conditions compared to control plants. Quantitative analysis of the average area of epidermal cells in the transition zone showed insignificant differences (29 % less) in the size of the treated plants compared to the control. The gravitropic slope angle (GSA) was also analyzed. The results showed a significant increase in GSA in A. thaliana seedlings under wedge conditions, indicating a deviation from the normal vertical root orientation, as in the control. The development of stress-induced autophagy at the morphological level was studied by fluorescence and confocal laser scanning microscopy. The characteristic signs of autophagy development under the influence of microgravity were revealed, in particular, an increase in the number of autophagosomes in root cells. Using the fluorescent dye MDC, the appearance of structures ranging in size from 3 to 20 μm was detected, indicating the active development of autophagy under the influence of stressful microgravity conditions. The results obtained using the LTR dye and the transgenic line of A. thaliana (GFP-ATG8a) in both cases showed the induction of autophagy and the maximum level of autophagosome formation in the epidermal cells of the root transition zone of A. thaliana plants after 6 days of cultivation. The number of autophagosomes was counted using the transgenic line of A. thaliana GFP-ATG8a. The results showed a significant increase in the number of autophagosomes in cells exposed to microgravity, indicating the activation of autophagy as a defense mechanism. On the 6th day of cultivation, the most significant change in the number of autophagosomes was observed (more than 2-fold) compared to the control, although on the 9th day the number of autophagosomes decreased in the cells of the root transition zone, they were still more than in the control plants. On the 12th day of cultivation, the number of autophagosomes in the cells of plant roots under conditions of clonostatization was similar to that of control plants.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Не застосовується

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- Yemets A, Shadrina R, Blume R, Plokhovska S, Blume Y. Autophagy formation, microtubule disorientation, and alteration of ATG8 and tubulin gene expression under simulated microgravity in Arabidopsis thaliana. npj Microgravity. 2024 Mar 18;10(1):1–16. doi: 10.1038/s41526-024-00381-9
- Yemets AI, Plokhovska SH, Shadrina RYu, Kravets OA, Blume YaB. Elucidation of cellular mechanisms of autophagy involvement in plant adaptation to microgravity conditions. Space Sci. & Technol. 2023;29(2):22–31. https://doi.org/10.15407/knit2023.02.022
- Plokhovska SH, Shadrina RYu, Kravets OA, Yemets AI, Blume YaB. The Role of Nitric Oxide in the Arabidopsis thaliana Response to Simulated Microgravity and the Involvement of Autophagy in This Process. Cytol Genet. 2022 Jun 1;56(3):244–52. doi: 10.3103/S0095452722030100
- Шадріна РЮ, Ємець АІ, Блюм ЯБ. Розвиток аутофагії як адаптивної відповіді рослин Arabidopsis thaliana на умови мікрогравітації. Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. 2019 Серпень 30;25:327–32. doi:10.7124/FEEO.v25.1186
- Shadrina RYu, Arslan SH, Yemets AI. Development of autophagy on simulated microgravity in plants and the role of microtubules in this process. В: Наукове видання під загальною редакцією Блюма ЯБ. Тези доп. IV конференція молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія»; 2024 трав. 16-18; Київ, Україна. Київ: 2024. С. 14
- Plokhovska SH, Kravets OA, Shadrina RYu, Yemets AI, Blume YaB. Crosstalk between nitric oxide and melatonin signalling molecules in Arabidopsis under simulated microgravity. В: Наукове видання під загальною редакцією Соколова ВМ. Тези доп. Міжнародна наукова інтернет-конференція «Селекція, генетика та біотехнологія сільськогосподарських рослин: досягнення, інновації та перспективи»; 2022 жовт. 26; Одеса, Україна. 2022. С. 144–145.
- Blume Ya. B, Plokhovska SH, Shadrina RYu, Kravets OA, Yemets AI. The role of nitric oxide in Arabidopsis thaliana response to simulated microgravity and the participation of autophagy in the mediation of this process. In: Manolis KG, editor. Abstracts. 44th COSPAR Sci. Assembly; 2022 Jul 16–24; Athens, Greece. 2022. P. 2902.
- Шадріна РЮ, Плоховська СГ, Горюнова ІІ, Кравець ОА, Ємець АІ, Блюм ЯБ. Розвиток стрес-індукованої автофагії у відповіді рослин на умови мікрогравітації та радіаційне опромінення. В: Ульянченко ОВ, редактор. Тези доп. Міжнародна науково-практична конференція «Стрес і адаптація рослин»; 2021 лют. 25–26; Харків, Україна. Вісник ХНАУ: Серія Біологія. 2021. С. 71.
- Shadrina RYu, Horiunova II, Yemets AI. Changes in atg8 and tua gene expression during autophagy induced by microgravity condition in Arabidopsis thaliana. В: Наукове видання під загальною редакцією Отченашко ВВ. Тези доп. IX Всеукраїнська науково-практична онлайн-конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії»; 2021 трав. 20–21; Київ, Україна. 2021. С. 96.
- Shadrina RYu, Horiunova II, Yemets AI. Transcriptome analysis of atg8 and tua genes involved in process of autophagy induced by microgravity stress. In: Scientific publication under the general editorship by Skrypnyk NV. Abstr. XVIII International conference of students and young scientists «Shevchenkivska vesna: bioscience advances»; 2020 May 2; Kyiv, Ukraine. 2020. P. 140.
- Shadrina R, Yemets A, Blume Y. Autophagy development in Arabidopsis thaliana under microgravity. Plant Biology (PB19) & Plant Synthetic Biology Major Symposium organized by ASPB (American Society of Plant Biologists); 2019 Aug; San Jose, CA, USA. 2019. P. 297.
- Шадріна РЮ, Ємець АІ, Блюм ЯБ. Дослідження морфологічних ознак аутофагії в коренях Arabidopsis thaliana в умовах зміненої гравітації. В: Сибірний АА, редактор. Тези доп. 6-й з'їзд Українського товариства клітинної біології; 2019 черв. 18–21; Яремче, Україна. 2019. С. 155.

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість: результати даного дослідження можуть стати основою для подальших розробок і досліджень, що спрямовані на адаптацію та стале вирощування рослин у умовах, подібних до космічних

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Впровадження не планується

Зв'язок з науковими темами: 0117U000909, 01118U003742

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Ємець Алла Іванівна

2. Alla Yemets

Кваліфікація: д. б. н., професор, член-кор. НАН України, 03.00.11, 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-6887-0705

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: вул. Байди-Вишневецького, буд. 2-а, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шевченко Галина Валеріївна

2. Galyna Shevchenko

Кваліфікація: д. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5826-025X

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417199

Місцезнаходження: вул. Терещенківська, буд. 2, Київ, 01601, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Заіменко Наталія Василівна

2. Natalia V. Zaimenko

Кваліфікація: д. б. н., професор, член-кор. НАН України, 03.00.16

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-2379-1223

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417228

Місцезнаходження: вул. Садово-Ботанічна, буд. 1, Київ, 01014, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Раєвський Олексій Володимирович

2. Alex Rayevsky

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-7596-6294

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: вул. Байди-Вишневецького, буд. 2-а, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Пірко Ярослав Васильович

2. Yaroslav Pirko

Кваліфікація: д. б. н., старший науковий співробітник, 03.00.22

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-1887-5406

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: вул. Байди-Вишневецького, буд. 2-а, Київ, 04123, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Карпов Павло Андрійович
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Карпов Павло Андрійович
Відповідальний за підготовку облікових документів	Пастухова Н.Л.
Реєстратор	УкрІНТЕІ
Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності	Юрченко Тетяна Анатоліївна