Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0416U000988

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 28-04-2016

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Секан Альона Сергіївна

2. Sekan Alona Serhiivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.20

Назва наукової спеціальності: Біотехнологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 18-04-2016

Спеціальність за освітою: 7.070401

Місце роботи здобувача: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417199

Місцезнаходження: 01601, Київ-01, вул. Терещенківська, 2

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): Д26.254.01

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: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417199

Місцезнаходження: 01601, Київ-01, вул. Терещенківська, 2

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.57

Тема дисертації:

1. Використання сайт-специфічної рекомбіназної системи Cre/loxP для одноетапного отримання трансформантів Arabidopsis thaliana, вільних від маркерних послідовностей

2. Using the site-specific recombination system Cre/loxP for the one-step obtaining of marker-free Arabidopsis thaliana transformants.

Реферат/анотація:

1. Об'єкт дослідження: ефективність роботи сайт-специфічної системи Cre/loxP в геномі трансформованих ліній A.thaliana в межах створених векторних ДНК-конструкцій протягом трьох поколінь трансформантів. Предмет дослідження: одноетапне отримання трансформантів A.thaliana, за допомогою нового підходу з використання сайт-специфічної рекомбіназної системи Cre/loxP, що має на меті повне видалення маркерных генов разом з геном cre, без залучення тканино-специфічних чи індуцибельних промоторів. Розроблено та сконструйовано два типи ДНК-конструкцій із сайт-специфічною рекомбіназною системою Cre/loxP (Cre/loxP1 та Cre/loxP2) з метою визначення вдалішого дизайну для отримання трансгенних рослин A. thaliana, вільних від loxP-обмежених ділянок Т-ДНК. За допомогою методу агробактеріальної трансформації шляхом занурення квіток з використанням створених ДНК-конструкцій одноетапно отримано генетично модифіковані лінії рослин A. thaliana (покоління Т0). Розроблено ефективну систему

селекції трансгенних ліній рослин в присутності сайт-специфічної рекомбінази Cre/loxP в їх геномі та отримано два наступних покоління трансгенних ліній (покоління Т1 та Т2). Проведено гістохімічний та молекулярно-генетичний аналіз кожного з поколінь трансформантів для ідентифікації події видалення loxP-обмежених ділянок Т-ДНК з маркерними генами. Виявлено, що за допомогою розробленого підходу із застосування сайт-специфічної рекомбіназної системи Cre/loxP вдається отримати трансформанти, вільні від маркерних генів вже у першому поколінні: у 10% рослин, трансформованих з використанням конструкції Cre/loxP1, та в 12% - з використанням конструкції Cre/loxP2. Показано, що з кожним наступним поколінням кількість ліній, трансформованих тією чи іншою ДНК-конструкцією та вільних від маркерних послідовностей зростає на 5-7%. Встановлено, що ефективність використання розробленого підходу із застосуванням сайт-специфічної рекомбіназної системи Cre/loxP для отримання генетично модифікованих рослин A. thaliana, вільних від послідовностей ДНК з маркерними генами, для векторної конструкції Cre/loxP1 становить 53% та для Cre/loxP2 - 43%. Проведено статистичний аналіз прояву ефектів при використанні обох досліджуваних видів ДНК-конструкцій і показано, що зміна розташування генів у векторних касетах обумовлює виникнення різних генетичних подій, в результаті чого було отримано трансгенні рослини з різними інтегрованими Т-ДНК. Розроблено статистичну класифікаційну модель, за допомогою котрої вдалось виділити критичні етапи експериментальних досліджень ефективності роботи розроблених ДНК-конструкцій, що уможливлює спрогнозувати ефективність використання розроблених ДНК-конструкцій на інших рослинних об'єктах з можливістю передбачення результатів прояву Т-ДНК в майбутніх трансформантах на 60%.

2. Object of study: the efficiency of the site-specific system Cre/loxP in the genome of transformed lines A.thaliana within the vector DNA-constructions through three transgene generations. Purpose of the study: one-step obtaining of A.thaliana transformants, using a new approach with site-specific recombination system Cre/loxP, which aims to complete excision of marker genes with gene cre, without involving tissue-specific or inducible promoters.Developed and designed two types of DNA-constructions with site-specific recombination system Cre/loxP (Cre/loxP1 and Cre/loxP2) to determine the more successful design for the obtaining of A.thaliana transgenic plants, free from loxP-bounded T-DNA sequences. Genetically modified plant lines A. thaliana (generation T0) obtained in one-step after agrobacterium-transformation by floral dip method with using of the created DNA-constructions. Effective system of selection for transgenic plant lines with site-specific recombinase Cre/loxP in their genome developed and obtained two subsequent generations of transgenic lines (T1 and T2 generation). Histochemical and molecular-genetic analysis of each generation transformants is carried out with aim to identify excision events of the loxP-limited T-DNA sequences with marker genes. Identified marker-free transformants of first generation owing to using the developed aproach with the site-specific recombination system Cre/loxP : 10% of plants transformed by DNA-construction Cre/loxP1, and 12% - by Cre/loxP2. It is shown that the number of marker-free transformed plant lines with one or another DNA-construction increases on 5-7% for each further generation. It is determined that the efficiency of the developed approach with using of the site-specific recombination system Cre/loxP for obtaining the genetically modified marker-free A.thaliana plants, for vector construction Cre/loxP1 is 53% and for the Cre/loxP2 - 43 %. Statistical analysis of the efficiency of using both studied DNA-constructions is obtained and it is shown that the changing of gene location on vector cassettes rises to different genetic events and resulting to the obtaining of transgenic plants with different types of integrated T-DNA. Statistical classification model is developed with aim to highlight the critical stages of experimental studies on efficiency in using of the designed DNA-constructions, that allows to predict the effectiveness of use this DNA-constructions on other plant objects with the ability to predictability for further results on 60%

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. Блюм Ярослав Борисович
2. Blume Ya.B

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.01, 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. Циганкова Вікторія Анатоліївна
2. Циганкова Вікторія Анатоліївна

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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тищенко Олена Миколаївна

2. Тищенко Олена Миколаївна

Кваліфікація: д.б.н., 31.00.12

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 Ємець Алла Іванівна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Ємець Алла Іванівна

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

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