Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0416U004317

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 28-10-2016

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Мацишин Микола Йосипович
2. Matsishin Mykola Yosypovych

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: 25-10-2016

Спеціальність за освітою: 8.18010023

Місце роботи здобувача: Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Код за ЄДРПОУ: 02070944

Місцезнаходження: 01033, м. Київ, вул. Володимирська, 64

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: Інститут молекулярної біології і генетики

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: 03680, Київ, вул. Заболотного, 150

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 62.13.51

Тема дисертації:

1. Розробка афінних біосенсорних систем для детектування мутацій пов'язаних з Ph'-позитивною лейкемією та резистентними формами туберкульозу

2. Development of affinity biosensor system for the detection of mutations associated with Ph'-positive leukemia and resistant forms of tuberculosis

Реферат/анотація:

1. В дисертаційній роботі вперше розроблено імпедіометричний ДНК-сенсор здатний визначати однонуклеотидну заміну в кодоні 531 гена rpoB M. tuberculosis при 1 нМ концентрації досліджуваної ДНК-мішені. Також в роботі вперше розроблено біосенсор на основі спектроскопії ППР для детектування наявності гібридного гена bcr-abl, який може забезпечити високо селективне, швидке і надійне розпізнавання відповідних послідовностей ДНК-мішеней з границею детектування 20 нМ без використання молекулярних міток. Для покращення його робочих характеристик вперше було реалізовано концепцію термодискримінації повністю та частково комплементарних олігонуклеотидів за допомогою геносенсора ППР з терморегульованою коміркою. Реалізовано спосіб селективного підсилення сигналу ППР шляхом використання наночастинок золота, модифікованих комплементарними пробі олігонуклеотидами-лінкерами.

2. In present work, DNA sensors for recognition of the mutations in the sequences related to the rpoB gene of Mycobacterium tuberculosis and hybrid gene bcr-abl were developed. The main goal of this research was to develop scientific and technological approaches to the development of DNA sensors for detecting mutations associated with Ph'-positive leukemia and resistant forms of tuberculosis. For detection of mutation in the codon 531 of the rpoB gene of M. tuberculosis, which causes resistance to anti-tuberculosis drug rifampicin, electrochemical (impedimetric) DNA sensor was developed. A bioselective element of the biosensor was formed on the gold electrode surface by immobilization of thiolated single-stranded DNA probes P2, which reproduce a corresponding fragment of the rpoB gene, and by passivation of the electrode surface (to reduce the non-specific adsorption) using 6-mercapto-1-hexanol. High selectivity of this biosensor has been shown: at injection of 1 nM complementary oligonucleotide T2, the charge transfer resistance (Rt) was significantly higher than that of 50 nM non-complementary oligonucleotides TC (632 Ohm and 121 Ohm, respectively). Moreover, a high level of discrimination between fully complementary oligonucleotides T2 and single-base mismatch oligonucleotides TN was achieved by the increasing hybridization stringency (reducing the ionic strength of the hybridization buffer solution). The high sensitivity, selectivity and reproducibility of the sensor response were proved in the research. For selective label-free real-time recognition of hybrid gene bcr-abl, surface plasmon resonance (SPR)- based biosensor was developed. Two stringency control strategies for detection of DNA hybridization and discrimination of fully and partially complementary 24-mer sequences were applied. These sequences are specific to the human normal bcr gene and the hybrid bcr-abl gene, protein product of which is responsible for chronic myelogenous leukemia. Thermodynamic parameters of the oligonucleotides hybridization, which were obtained by using the web server DINAMelt, allowed to suppose the possibility for these stringency control strategies based (i) on the change of the hybridization buffer ionic strength and (ii) on the temperature elevation. The first one resulted in increase of the discrimination index of completely and partially complementary oligonucleotides from 1.8 in 2xSSC to 2.9 in 0.5xSSC, for 50 nM concentration of the oligonucleotides. For implementation of the second stringency control strategy, SPR spectrometer measuring flow cell with built-in high-precision temperature control and regulation as well as corresponding software was created. It is shown that the duplexes formed by the immobilized probes mod-Ph and completely complementary oligonucleotides P1 remained without significant changes until ~ 50 C, while the duplexes formed with partially complementary oligonucleotide Bcrex14 almost entirely disrupted at 40 C. Thus, the effective thermo discrimination of these oligonucleotides was achieved. For improvement of the sensitivity of SPR-based DNA sensor, a method of selective amplification of the sensor response using gold nanoparticles modified by oligonucleotides, which are complementary to oligonucleotides immobilized on the sensor surface was elaborated. In order to control the level of oligonucleotide immobilization on the surface of gold nanoparticles, a fluorescence-based experimental approach was proposed. The achieved selective amplification of the SPR-based DNA sensor response by modified gold nanoparticles allowed to decrease detection limit and to increase biosensor signal approximately one hundred times.

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. Солдаткін Олексій Петрович

2. Soldatkin Alexey Pertrovich

Кваліфікація: д.б.н., 02.00.20

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. Товкач Федір Іванович

2. Товкач Федір Іванович

Кваліфікація: д.б.н., 02.00.22

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. Макогоненко Євген Митрофанович

2. Макогоненко Євген Митрофанович

Кваліфікація: д.б.н., 02.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

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.