

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0510U000782

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 22-11-2010

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Ємець Алла Іванівна

2. Yemets Alla Ivanovna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 03.00.11

Назва наукової спеціальності: Цитологія, гістологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 12-11-2010

Спеціальність за освітою: 7.070402

Місце роботи здобувача: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: 04123, Україна, Київ-123, вул.Осиповського 2-а

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 26.215.01

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: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: 04123, Україна, Київ-123, вул.Осиповського 2-а

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.15.27

Тема дисертації:

1. Ключова роль тубуліну в молекулярних та клітинних механізмах стійкості рослин до гербіцидів з антимітотичною активністю
2. Key role of tubulin in molecular and cellular mechanisms of plant resistance to herbicides with antimitotic mode of action

Реферат:

1. Дисертаційна робота присвячена дослідженню структурних та молекулярно-біологічних особливостей тубуліну, які дозволяють йому відігравати ключову роль у реалізації молекулярних та клітинних механізмів стійкості рослин до гербіцидів з антимітотичною активністю, зокрема, до динітроанілінів та фосфоротіоамідів, а також розробці нових підходів щодо цілеспрямованого пошуку нових сполук з антимікротрубочковим механізмом дії, ефективних методів поліплоїдизації та мікронуклеації клітин рослин та застосування мутантних генів тубуліну в генетичній інженерії як селективних маркерних генів та для отримання трансгенних рослин, стійких до цих гербіцидів. Зокрема, вперше досліджено механізм стійкості до ізопропіл-N-фенілкарбамату у отриманих мутантів *Nicotiana sylvestris* та встановлено, що вони є мутантами по білках центрів організації мікротрубочок. Встановлено, що отримані лінії тютюну *Nicotiana*

plumbaginifolia, стійкі до динітроаніліну трифлюраліну (з перехресною стійкістю до ряду інших динітроанілінів та фосфоротіоамідів), характеризуються наявністю мутантної субодиниці бета-тубуліну із заміною Фен-317 на Сер, а лінії *N. plumbaginifolia*, стійкі до фосфоротіоаміду аміпрофосметилу, - Сер-248 на Про. Продемонстровано, що саме експресія мутантного ізо типу тубуліну забезпечує стійкість мікротрубочок та клітин рослин до цих класів гербіцидів. За допомогою клітинної культури гусячої трави *Eleusine indica* як моделі для вивчення ролі тубуліну у механізмах стійкості до динітроанілінів та фосфоротіоамідів доведено, що точкова мутація в молекулі альфа-тубуліну (заміна Тре-239 на Іле) забезпечує стійкість клітин цих рослин до зазначених гербіцидів. При порівнянні структурно-біологічних особливостей сайтів зв'язування альфа-тубуліну з ліній *E. indica*, чутливих та стійких до динітроанілінів, встановлено, що саме така мутація забезпечує стійкість молекули цього білку до динітроанілінів та фосфоротіоамідів. Вперше продемонстровано, що молекули бета- та гама-тубуліну не мають такого ж сайту зв'язування цих сполук у гомологічних фрагментах їх молекул, хоча молекула бета-тубуліну має інший сайт зв'язування цих сполук. На основі аналізу структурно-біологічних особливостей сайтів зв'язування динітроанілінів та фосфоротіоамідів альфа-тубуліном здійснено хімічний дизайн нових похідних динітроанілінів та скринінг їх активності на основі спорідненості до тубуліну рослин. На підставі оцінки ефективності взаємодії динітроанілінів, фосфоротіоамідів та фенілкарбаматів з мікротрубочками рослин запропоновані високоефективні методи поліплоїдизації та мікронуклеації рослинних клітин з їх використанням. Вперше продемонстровано можливість застосування гена мутантного тубуліну, що забезпечує стійкість до динітроанілінів, у якості безпечного селективного маркерного гена рослинного походження в клітинній та генетичній інженерії рослин. Шляхом генетичної трансформації рослин з використанням мутантного гена альфа-тубуліну вперше отримано трансгенні лінії однодольних (пальчасте просо) та дводольних (тютюн, соя та льон) рослин зі стійкістю до динітроанілінів та фосфоротіоамідів.

2. The thesis is devoted to investigation a tubulin structural, molecular and biological peculiarities permitting a key role in realization molecular and cell mechanisms of plant resistance to herbicides with anti-mitotic mode of action (dinitroanilines and phosphorothioamidates); in elaboration a new approaches for goal-seeking search of new compounds with anti-microtubular activity, effective methods for polyploidisation and micronucleation of plant cells, and usage of a mutant tubulin genes in the capacity of selective marker genes in genetic engineering for production transgenic plants resistant to these herbicides. Particularly, for the first time the mechanism of resistance to isopropyl-N-phenyl carbamate have been investigated in obtained mutants *Nicotiana sylvestris* and have been shown that they are the mutants on proteins of microtubule organizing centres. It was established that obtained lines *Nicotiana plumbaginifolia* resistant to dinitroaniline trifluralin (with cross-resistance to another dinitroanilines and phosphorothioamidates) possess a mutant beta-tubulin subunit carrying substitution of Phen317 to Ser, and lines *N. plumbaginifolia* resistant to phosphorothioamidate amiprophosmethyl - of Ser248 to Pro. Using cell cultures of goosegrass *Eleusine indica* as a model to study the tubulin role in the mechanisms of resistance to dinitroanilines and phosphorothioamidates it has been proved that missens mutation in alpha-tubulin molecule (substitution The239 to Ile) provides the resistance to these herbicides in *E.indica* cells. It was shown also that beta- and gamma-tubulin molecules do not possess the same site of herbicide interaction in homological fragments of their molecules. Based on analysis of structural peculiarities of dinitroaniline and phosphorothioamidate binding sites with alpha-tubulin the chemical design of new dinitroaniline derivatives and the screening their biological activities were carried out. High-performance methods of plant cell polyploidisation and micronucleation with use dinitroanilines, phosphorothioamidates and phenylcarbammates have been worked out. For the first time it has been demonstrated the application of mutant tubulin gene carrying dinitroaniline-resistance as as a safe selective marker plant gene in cellular and genetic engineering of plants. For the first time transgenic lines of monocotyledonous (finger millet) and dicotyledonous (tobacco, soybean, flax) plants with resistance to dinitroanilines and phosphorothioamidates have been obtained using mutant alpha-tubulin gene.

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 ОПВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кунах Віктор Анатолійович
2. Кунах Віктор Анатолійович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.11, 03.00.15

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. Мельничук Максим Дмитрович
2. Мельничук Максим Дмитрович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.11, 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. Галкін Анатолій Павлович

2. Галкін Анатолій Павлович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.04, 03.00.11

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**

Черевченко Тетяна Михайлівна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Черевченко Тетяна Михайлівна

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Реєстратор

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Т.А.