Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0420U102370

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 24-12-2020

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Коломієць Леся Анатоліївна
2. Kolomiiets Lesia Anatoliivna

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: 22-12-2020

Спеціальність за освітою: мікробіологія та вірусологія

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, м. Київ, Київська обл., 03143, 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 26.237.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, м. Київ, Київська обл., 03143, 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 молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 150, м. Київ, Київська обл., 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.15.51, 62.37

Тема дисертації:

1. Створення та характеристика нанокомпозитного комплексу протипухлинного цитокіна EMAP II з декстраном 70

2. Creation and characterization of a new nanocomposite complexEMAPII with dextran 70

Реферат/анотація:

1. Дисертаційна робота присвячена дослідженню стабілізації білків, зокрема ендотеліального та моноцитактивуючого поліпептида II, дослідженню механізмів його агрегації, способам запобіганню агрегації та стабілізації білка. Розроблена генноінженерна технологія отримання протипухлинного цитокіна EMAP II в препаративних кількостях. Оптимізовані умови експресії EMAP II в бактеріальній системі E.coli. Вперше створено нанокомпозитний комплекс EMAP II з декстраном 70, показана його роль в стабілізації білка, біологічна активність комплексу на культурах клітин та на тваринах. Запропоновано можливий механізм агрегації цитокіну EMAP II, який полягає у взаємодії неструктурованої петлі 34DVGEIAPR41 молекули білка з гідрофобною триптофановою “кишеню” на поверхні іншої молекули білка. Показано, що ймовірним механізмом стабілізації білкової глобули EMAP II декстраном 70 згідно даних комп’ютерного моделювання

структури комплекса EMAP II з полісахаридом є блокування декстраном 70 потенційних сайтів на поверхні білка, відповідальних за утворення агрегатів білка.

2. Endothelial monocyte activating polypeptide II (EMAP II) is a cytokine capable of exhibiting anti-angiogenic action, inducing expression of TNF and interleukin-8, causing apoptosis of endothelial cells. EMAP II ability to inhibit neoangiogenesis and stimulate cancer cell apoptosis has become the basis for investigating whether it can be used as an anticancer drug. The antitumor effect of EMAP II has been experimentally demonstrated on different types of tumors. Proteins and protein preparations are widely used in medical practice in the treatment of various diseases. The main problem with the use of proteins as drugs is their instability, high ability to aggregate and low degree of solubility.The most effective way of combating the problem of aggregation is to use variety of ligands that prevent aggregation. Dextran belongs to the family of natural polysaccharides that are widely used in clinical and preclinical studies with a well-characterized safety profile. Dextran is also used in nanomedicine, which uses submicron particles for therapeutic and diagnostic purposes. Dextran is also used to protect and stabilize the unique structure of the proteins (e.g., albumin, streptokinase, asparagine, insulin, hemoglobin). The bacterial expression of EMAP II cytokine and preparation of recombinant protein in preparative amounts were optimized. It was shown that the optimal conditions for cytokine expression are the cultivation of bacterial culture of E. coli BL21 (DE3) pLysE on the minimal medium A. In the course of EMAP II cytokine expression the maximum amount of protein was observed if the inductor was added to the culture medium for the second hour of culture and the optimal concentration of the inducer of the synthesis IPTG was 1.25 mM. The highest increase in expression of the target protein was observed in the culture of 4.5 h induction. A highly purified EMAP II cytokine was obtained to further construct its complex with the ligand and to study its characteristics. The recombinant EMAP II protein was titrated with dextran 70 solution. The change of fluorescence intensity of the protein was observed with increasing ligand concentration, which indicates the strong binding of the ligand to the recombinant protein and the formation of a stable complex. This indicates the stabilization of EMAP II structure in the complex, which is more resistant to high temperatures compared to free protein. Dynamic light scattering was used to study the effect of dextran 70 on the aggregation of the cytokine EMAP II. It was shown that the complex EMAP II with dextran 70 is quite strong and stable, the polysaccharide dextran 70 stabilizes the EMAP II protein globule and prevents aggregation processes. To understand the nature of the aggregates formation of EMAP II protein, we modeled the interaction between the spatial structures of the protein using Cluspro 2.0 and SymmDock web servers for the macromolecular docking. The analysis of spatial structures revealed that one of the key roles in the formation of contacts between protein molecules in the structure of protein-protein complexes was played by the unstructured loop 34DVGEIAPR41, which blocks the hydrophobic tryptophan pocket. In order to identify a potential dextran binding site of the surface of EMAP II, the flexible docking was performed using the AutoDock Vina software. According to models obtained in the binding of dextran 70 to EMAP II involved such residues as Arg12, Gly36, Glu37, Ile38, Arg41, Lys68, Lys71, Met72, Arg73, Leu76, Lys116, Asn119, Lys121, Lys123, Trp125, Lys166. When checking the nanocomposite preparation EMAP II with dextran 70 for the presence of lipolysaccharides, it was found that the preparation contained less than 0.5 IU/kg but more than 0.03 IU/kg. Toxicological testing of LD50 complex EMAP II with dextran 70 was performed on Balb/c laboratory mices. It was shown that after the infusion of the EMAP II complex with dextran 70 to mice at doses of 300 - 10 000 μg/kg no general toxic effect of the complex was not observed and it does not cause animal death. Using the PST cell culture (piglet testicles), it was shown that the complex of EMAP II with dextran 70 induces the production of TNF-□ in the concentration range from 1.6 to 25.0 μg/ml. Interferon production by the cell cultures was not detected upon treatment with EMAP II complex with dextran 70. It was shown that dextran 70 does not affect TNF-□ production. On the model of transplanted fragments of human prostate adenocarcinoma complex EMAP II with dextran 70 with a concentration of 10 μg/kg, it was found that the complex provided 77% inhibition of the tumor growth progress.

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. Корнелюк Олександр Іванович
2. Kornelyuk Alexander Ivanovich

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.03

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. Курдиш Іван Кириллович
2. Kurdish Ivan Kyrylovych

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. Колибо Денис Володимирович
2. Kolybo Denys Volodymyrovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.03

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. Солдаткін Олександр Олексійович
2. Soldatkin Oleksandr O.

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. Колибо Денис Володимирович
2. Kolybo Denys Volodymyrovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.03

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 Єльська Ганна Валентинівна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Кунах Віктор Анатолійович

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

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