

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту клітинної біології
та генетичної інженерії НАН України,
академік НАН України
Микола Івченко



(Підпис)

М.П

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ

про виконану роботу у 2021 році в рамках реалізації проекту
із виконання наукових досліджень і розробок

«Вплив стресових чинників на синтез білків з пріонними властивостями у рослин»

Назва конкурсу: «Підтримка досліджень провідних та молодих учених»

Реєстраційний номер Проекту: 2020.02/0316

Підстава для реалізації Проекту з виконання наукових досліджень і розробок
(реєстраційний номер та назва Проекту) 2020.02/ 0316 «Вплив стресових чинників на
синтез білків з пріонними властивостями у рослин»

Рішення Наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення
переможця конкурсу

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення
переможця конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих учених» протокол
від 16-17 вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЕКТ

Загальна тривалість виконання Проекту 2020 рік – 2022 рік

Тривалість виконання Проекту у 2021 році

Початок – 17.05.2021

Закінчення – 15.12.2021

Загальна вартість Проекту, грн. 11 244 700,00

Вартість Проекту по роках, грн.:

1-й рік 1 500 000,00

2-й рік 4 744 700,00

3-й рік 5 000 000,00

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЕКТУ

до виконання Проекту залучено 10 виконавців, з них:

доктори наук 2;

кандидати наук 6;

інші працівники 2.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЕКТУ

Грантоотримувач – Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України (далі ІКБГІ). Державна установа, підпорядкованість установи – НАН України.
Код ЄДРПОУ 04591245. Код(и) КВЕД 72.11.

Основні стратегічні напрями наукової діяльності: з'ясування молекулярно-біологічних та молекулярно-генетичних механізмів життєдіяльності рослинних клітин, створення нових біотехнологій на основі клітинної і генетичної інженерії; вивчення впливу хронічного опромінення на формування нестабільності геному рослин; створення оптимальної системи засобів і методів використання рослинних груп з метою дезактивації радіонуклід-забруднених територій; вивчення механізмів захисту рослин від несприятливих умов та забруднюючих речовин, створення стійких рослин і технологій очищення довкілля; вивчення проблем біобезпеки використання генетично модифікованих рослин.

Керівник установи - Кучук Микола Вікторович
Юридична адреса – вул. Академіка Заболотного, 148 м. Київ, 03143
Телефон +380 44 526-7104 Адреса електронної пошти info@icbge.org.ua
Посилання на веб сторінку установи <http://www.icbge.org.ua/>

Субвиконавець – Національний ботанічний сад імені М.М. Гришка НАН України (далі НБС). Державна установа, підпорядкованість установи – НАН України.
Код ЄДРПОУ 05417228. Код(и) КВЕД 91.04.

Основні стратегічні напрями наукової діяльності: інтродукція, акліматизація та селекція рослин; вивчення, збереження та збагачення біологічної різноманітності рослин; екологічний моніторинг та оптимізація біогеоценозів; ландшафтне проектування та садово-паркове будівництво.

Керівник установи - Заіменко Наталія Василівна
Юридична адреса – вул. Тімірязєвська, 1 м. Київ, 01014
Телефон +380 44 285 41 05
Адреса електронної пошти nbg@nbg.kiev.ua
Посилання на веб сторінку установи [http://www.nbg.kiev.ua /](http://www.nbg.kiev.ua/)

4. ОПИС ПРОЕКТУ

4.1. Мета Проекту (до 200 знаків)

Вивчення активності генів та синтезу білків, пов'язаних з відповіддю на хронічні стрес фактори, зокрема, іонізуюче та УФ-випромінювання, засолення, підвищена температура, посуха та пошук білків із пріонними властивостями і амілоїдів у рослин. Для цього будуть застосовані такі методи: qPCR аналіз, протеоміка, мас-спектрометрія, FTIR-спектроскопія, цитологічний аналіз рослинних зразків, забарвлених Конго червоним для можливостей виявлення амілоїдних структур у рослин за дії стресових чинників.

4.2. Основні завдання Проекту (до 400 знаків)

1) дослідження впливу хронічних стрес-факторів, включаючи кліматичні та інтродукційні умови, на рослини арабідопсису, сої, гороху, льону, тополі, верби, нуту,

м'яти, крес-салату та ін. на перехід білків з α -стану в β -структури в різних тканинах рослин за допомогою FTIR- та Раман- спектроскопії; 2) визначення активності генів, пов'язаних з відповіддю рослин на ряд стресових чинників (іонізуюче та УФ-випромінювання, засолення, підвищена температура, посуха); 3) складання протеомних карт рослин, що зазнали дії стресових чинників та визначення білків-кандидатів, що можуть мати пріоноподібні властивості; 4) виявлення у поколіннях стресованих рослин арабідопсису трансгенераційної пам'яті, пов'язаної з пріонними властивостями білків; 5) пошук амілоїдних структур у рослин за дії стресу за допомогою цитологічних методів; 6) пошук та обґрунтування механізмів утворення пріоноподібних білків під дією хронічних стресових чинників, та їх участі в довготерміновій трансгенераційній пам'яті у рослин.

4.3. Детальний зміст Проекту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

Пріони утворюють аномальні агрегати білків, т.зв. амілоїди, що накопичуються у тканині і пов'язані з її пошкодженням та загибеллю клітин. Білки з пріонними властивостями можуть не лише завдавати шкоди тваринному організму, але й мають властивість трансгенераційної пам'яті. Вони, без участі нуклеїнових кислот, можуть за рахунок самосинтезу призвести до змін конформації та функцій білків, і цей процес, очевидно, може мати загальнобіологічне значення.

- Новизна Проекту (до 400 знаків)

Виникнення пріоноподібних білків і, в подальшому утворення амілоїдів під дією хронічних стресових факторів, вивчено у ссавців, бактерій та грибів, але ще не досліджено у рослин із належною увагою. Експерименти зі з'ясування механізмів появи пріоноподібних білків у рослин можуть наблизити до зменшення важких наслідків пріонних хвороб у ссавців.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

Досліджено появу білків з β -конформацією за допомогою FTIR- спектроскопії на рослинах (горох, нут, соя, льон, арабідопсис, тополя), що зазнають впливу хронічних факторів стресу (іонізуюче випромінювання, засолення, посуха), а також за акліматизації (*Parrotia persica*). На даному етапі роботи застосовані методи: ПЛР у реальному часі, протеоміки, мас-спектрометрії, мікроскопічного аналізу (пофарбування Конго червоним), біотехнологічні (культивування рослин *in vitro*).

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проекту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проекту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

На етапі «Протеомні та трансгенераційні дослідження рослин, що зазнали дії хронічних стресових чинників» було заплановано три завдання, які повністю виконані. Проведено дослідження для визначення білків з α - та β -конформаціями у листках та насінні рослин за дії іонізуючого та УФ-випромінювання, засолення, посухи та інтродукційних умов за допомогою FTIR-спектроскопії. Виділено білки з тканин рослин та проведено протеомний мас-спектрометричний аналіз для їх ідентифікації в рослинах за дії стресових умов. Із застосуванням програмного забезпечення PLAAC оцінено вірогідність появи пріоноподібних властивостей у білках, профілі яких змінювалися під дією стресових чинників. Отримані результати

свідчать про зростання частки β -структур у білках під дією опромінення, що уможливило появу в них пріоноподібних властивостей. Методом qPCR оцінено експресію генів гороху, сої і тополі, що кодують потенційно амілоїдоподібні білки, під дією стресових чинників – іонізуючого випромінювання, посухи, засоленості. Встановлено, що вищеозначені абіотичні стреси викликають статистично достовірні зміни в активності досліджуваних генів. Виділено білки з листків паротії перської, проростків гороху і ячменю для визначення вмісту β -амілоїдних агрегатів з використанням препаратів, пофарбованих Конго червоним. Аналіз цих препаратів на флюоресцентному мікроскопі з поляризованим світлом показав накопичення β -амілоїдних агрегатів під дією опромінення та інтродукційних умов, залежно від видових та фенотипових відмінностей рослин. Продемонстровано, що у стресованих рослин гороху та паротії можуть синтезуватися речовини, імовірно поліфенольної природи, які запобігають агрегації β -амілоїдів. Протеомні та FTIR-спектроскопічні дослідження показали наявність «трансгенераційної пам'яті» у рослин, пов'язаної з пріонними властивостями білків. Зокрема, у радіорезистентних рослинах льону, які протягом трьох поколінь росли в зоні відчуження Чорнобильської АЕС, під впливом хронічного іонізуючого випромінювання трансгенераційно накопичувалися пріоноподібні білки. В той час як у радіочутливих рослин сої кількість пріоноподібних білків знижувалася в поколіннях за рахунок значної елімінації нежиттєздатного насіння. Опрацьовано методику та виділено β -амілоїдні фракції з насіння гороху за допомогою ультрацентрифугування з SDS у градієнті сахарози з подальшою обробкою мурашиною кислотою. Ці фракції планується проаналізувати на мас-спектрометрі для ідентифікації пріоноподібних протеїнів.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

Науково-технічна продукція не має аналогів.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проекту для економіки та суспільства (стосується проектів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

Проект відноситься до фундаментальних досліджень.

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проекту в суспільній практиці.

Очікується, що проект матиме практичне значення та цінність, зокрема для захисту людини і тварин, оскільки пріоноподібні білки при потраплянні в організм викликають алергію. Отримані дані дозволять надати рекомендації щодо використання рослинної продукції, яка може містити пріоноподібні білки при вирощуванні рослин за несприятливих умов довкілля.

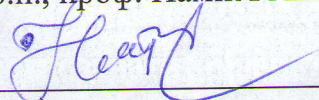
Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування.

Науковий керівник Проекту

завідувач лабораторії біофізики сигнальних систем,

відділу біофізики та радіобіології

д.б.н., проф. Намік РАШИДОВ



(підпис)