

ЗАПИТ
на проведення наукової (науково-технічної) роботи

1. Назва роботи

Створення новітніх багатофункціональних тіазолінідонових наноматеріалів зі скерованим остеомодулюючим ефектом для остеопластики та лікування остеопорозу

2. Вид тематики

II. Програмно-цільова та конкурсна тематика НАН України

3. Назва цільової програми або цільового проєкту

Цільова програма фундаментальних досліджень НАН України «Перспективні фундаментальні дослідження та інноваційні розробки наноматеріалів і нанотехнологій для потреб промисловості, охорони здоров'я та сільського господарства» на 2020–2024 рр.

4. Назва розділу програми або напряму цільового проєкту

Розділ 4. Нанобіотехнології та наноматеріали медичного та сільськогосподарського призначення

4.1. Створення сучасних нанобіотехнологій і наноматеріалів медичного та аграрного призначення

5. Строки виконання роботи

01 квітня 2020 р. - 31 грудня 2024 р.

6. Код програмної класифікації видатків

6541030 (фундаментальні дослідження)

7. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

8. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій

9. Код та назва наукового напрямку (проблеми) з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук

2.2.4.4. Вивчення впливу наночастинок і нанокompозитів на метаболізм нормальних і пухлинних клітин та розробка підходів до таргетної терапії

10. Науковий керівник роботи

Корчинський Олександр Геннадійович, к.б.н., старший науковий співробітник, Інститут біології клітини НАН України
телефон: (032)-261-22-87; факс: +38 032 261 2148; e-mail: olexkor@cellbiol.lviv.ua

11. Відповідальні виконавці

Прізвище, ім'я та по батькові	Науковий ступінь, посада, місце роботи, телефон, електронна адреса	Підпис
Стойка Ростислав Стефанович	член-кор. НАН України, д.б.н., проф., завідувач відділу, ІБК НАН України, тел.: +38 032 261 2287, e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua	
Фінюк Наталія Степанівна	к.б.н., науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: (032)-261-22-87, e-mail: nataliyafiniuk@gmail.com	

12. Установи - співвиконавці

н е м а є

13. Ключові слова

остеопороз, остеогенез, мезенхімні стовбурогві клітини, фактор нектозу пухлин типу альфа, тіазолідинонові похідні, бісфосфонати. остеопластика

14. Резюме

Ефективна та якісна кісткова пластика є критично важливою в гоєнні дефектів кісткової тканини, що виникають в результаті генетичних захворювань, переломів, які не зростаються, та травм (включаючи бойові). Крім того, в стоматологічній практиці та шелепно-лицьовій хірургії при підготовці до введення імпланту часто необхідним є нарощування кісткової маси щелепи пацієнта до товщини, достатньої для ефективної інтеграції імпланту. З іншого боку, морфогенетичні білки кістки (МБК - Bone Morphogenetic Proteins, BMP) є індукторами утворення кісткової тканини в ході ембріогенезу, критично необхідними для підтримання гомеостазу скелету [Korchynskiy & ten Dijke, 2004]. Проте, до 10% операцій заміни кульшового суглоба (в першу чергу – в хворих остеопорозом) є невдалими внаслідок остеолізу, який відбувається в зоні введення протезу і є наслідком локальних запальних процесів. Оскільки будь-яке як стоматологічне, так і ортопедичне втручання неминуче веде до локального запального процесу, на сьогодні критично необхідними та високоперспективними є ефективні протизапальні препарати скерованої дії та створені із їх включенням кістковопластичні матеріали для індукції і модуляції остеогенезу в зоні кісткового дефекту.

Керівник проекту Корчинський О.Г. має більш, ніж 20-річний досвід в дослідженнях молекулярних механізмів функціонування сигнального шляху МБК [Korchynskiy & ten Dijke, 2002, Krause et al., 2010; de Gorter et al., 2011; Pulkki et al., 2011, Sountoulidis et al., 2012] та більш 15 років досліджень прозапального сигнального ланцюга ядерного фактора κB (NF-κB) [Luo et al., Nature'2007, Descargues et al., PNAS'2008]. Глибоке розуміння молекулярних механізмів, які опосередковують функціонування сигнального шляху МБК з притаманними йому кістково-індуктивними ефектами дозволили нам також з'ясувати особливості негативної взаємодії сигнального шляху МБК та прозапального ланцюга NF-κB [Malysheva et al., 2017; Korchynskiy O, власні дослідні дані]. В наших попередніх дослідженнях ми провели скринінг перспективних тіазолідинонових похідних та відібрали серед них сполуки, які перетворюють прозапальний цитокін фактор нектозу пухлин (ФНП) α (TNFα) із інгібітора в стимулятор остеогенезу [Malysheva et al., 2017]. Проте, всі існуючі на сьогодні тіазолідинонові похідні є нерозчинними у воді, що різко обмежує перспективи їх використання в клінічній практиці. Основною ідеєю

даного проекту є хімічна модифікація найбільш перспективних тiazолідинонових препаратів за допомогою внесення в їх структуру бісфосфонатної функціональної групи. Така модифікація має високий шанс вирішити проблему розчинності цих препаратів у воді та одночасно і має забезпечити їх адресне скерування до кісткової тканини. В той самий час, для існуючих бісфосфонатних лікарських форм показаний проапоптичний ефект на остеокласти, а наші тiazолідиноново-бісфосфонатні нанопохідні надають можливість уникнути таких небажаних ефектів.

Даний проект є практичною реалізацією глибокого розуміння молекулярних механізмів, які модулюють функціонування сигнального шляху МБК, його кістково-індуктивних ефектів та взаємодію остеогенних і прозапальних сигнальних шляхів. Робота над даним проектом має перспективу створити сучасні високоефективні та висококонкурентні тiazолідинонові протизапальні нанопрепарати скерованої дії для включення в нанорозмірні кістковопластичні матеріали з метою модулювання ефектів морфогенетичних білків кістки в процесі індукції та підтримання регенеративного остеогенезу, а в перспективі - і для захисту від остеопорузу.

15. Обґрунтування доцільності виконання роботи

15.1. Цілі та завдання роботи, її актуальність, соціальна та економічна значимість.

Основною метою нашої роботи є:

Розробити технологію і створити водорозчинні тiazолідинонові наноматеріали із остеотропними та остеомодулюючими властивостями для ефективної остеопластики і лікування остеопорузу.

Для досягнення цієї мети нами будуть виконані наступні завдання:

1. створити методами хімічного синтезу ковалентно зв'язані водорозчинні тiazолідинон-бісфосфонатних нанопохідні (ТБН) та вивчити їх фізико-хімічні властивості;
2. вивчити біологічну дію новостворених водорозчинних ТБН на мезенхімні стовбурові клітини та моуляцію ними остеогенезу *in vitro* та *in vivo*;
3. вивчити біологічну дію новостворених водорозчинних ТБН на остеокластогенез і регуляцію апоптозу остеокластів та модуляцію співвідношення OPG/RANKL в кістковій тканині піддослідних тварин.
4. відпрацювати умови системного лікування піддослідних тварин досліджуваними комплексами водорозчинних форм ТБН, або ж, альтернативно, ТБН внесеними в склад нанорозмірних остеопластичних матриксів, створених за допомогою електроспіннингу.

15.2. Стан розроблення проблеми.

Вперше активність МБК була виявлена Urist [Urist, 1965] в екстракті декальцифікованої кістки бика за її здатністю індукувати утворення кістки після ін'єкції цього білкового екстракту в м'яз щура. Відомо, що рівень експресії МБК є підвищеним в зонах росту (growth plate) епіфізів кісток [Yazaki et al., 1998] і на сьогодні є очевидною провідна і незамінна роль МБК в індукції утворення кісткової тканини шляхом остеогенної диференціації мезенхімних стовбурових клітин [Korchynskiy & ten Dijke 2004; ten Dijke et al., 2003].

Лабораторія Корчинського О. має в своєму розпорядженні плазмідні конструкції, що кодуєть кДНК рекомбінантних МБК2, МБК4, МБК6 та МБК7 і має обширний досвід ефективної доставки рекомбінантних генів до клітин-мішеней [Korchynskiy & ten Dijke 2002; Korchynskiy et al., 2003; Luo et al., 2008; Korchynskiy 2012]. За підтримки гранту ДФФД лабораторією Корчинського О. відпрацьовано умови наробки препаратів, збагачених гетеродимерними рекомбінантними білками МБК з культуральних середовищ клітин ссавців [Malysheva et al., 2016], а також наробки та очистки гомодимерних МБК з бактерій. Так, в наших експериментах, проведених з первинними мезенхімними стовбуровими клітинами (МСК) людини, МБК2/7 був в 10 разів більш активний у порівнянні з гомодимерним МБК2/2 та в 30 разів більш активний у порівнянні з гомодимерним МБК7/7.

Крім цього, за підтримки гранту ДФФД нами у міжнародній співпраці із Гданським політехнічним університетом було створено біодеградабельні кістковопластичні матрикси на основі поліуретанів, а також їх похідні, модифіковані β-гліцерофосфатом кальцію [Kucinska-Lipka et al., Polymers'2017]. У результаті проведеної роботи на четвертому етапі виконання проекту було за умов *in vitro* проведено оптимізацію умов внесення мезенхімних стовбурових клітин-попередників в остеоіндукуючий матрикс. Показано, що немодифіковані поліуретанові матрикси PU та PU-PCL можуть бути оптимальними субстратами для прикріплення популяції

преостеобластних клітин, а модифікація β -гліцерофосфатом кальцію веде до локального закиснення середовища [Kucinska-Lipka et al., Polymers'2017].

Оскільки функціонування сигнального шляху МБК модулюється іншими сигнальними шляхами [de Gorter et al., 2011; Korchynskyi, власні дослідні дані] ми провели дослідження не тільки щодо оптимізації препаратів МБК, але й щодо пошуку нових перспективних інгібіторів сигнального шляху ядерного фактора κB (NF- κB). У співпраці із кафедрою фармакології Національного медичного університету ім Данила Галицького ми провели скринінг перспективних тiazолідинонових похідних та відібрали серед них сполуки, які перетворюють прозапальний цитокін фактор нектозу пухлин (ФНП) α (TNF α) із інгібітора в стимулятор остеогенезу [Malysheva et al., 2017]. Проте, всі існуючі на сьогодні тiazолідинонові похідні є нерозчинними у воді, що різко обмежує перспективи їх використання в клінічній практиці. Тому нами запропоновано провести ковалентну модифікацію найбільш перспективних згідно нашого скринінгу тiazолідинонових похідних шляхом приєднання до них бісфосфонатної функціональної групи. Така модифікації мала б не тільки внести в структуру тiazолідинонових похідних функціональну групу високої гідрофільності, але й завдяки подібності бісфосфонатів до пірофосфатної групи гідроксиапатитів, забезпечити скеровану доставку цих препаратів до кістки та ефективну їх акумуляцію в кістковій тканині.

Перевірка та оптимізація властивостей остеоіндуктивних матеріалів in vitro.

Ефективні кістковопластичні матеріали володіють остеоіндуктивною активністю, а саме: здатністю викликати накопичення в них МСК реципієнта з наступною остеогенною диференціацією цих клітин та утворенням кістки. Тому важливим аспектом роботи є перевірка та оптимізація остеоіндуктивних властивостей кістковопластичного матеріалу *in vitro* з використанням первинних МСК людини. З аспірату хірургічного матеріалу, отриманого за належної згоди пацієнтів при операції з заміни кульшового суглобу людини, нами виділено фракцію МСК. Клітини центрифугували в градієнті фіколу і збирали фракцію, збагачену МСК. Для відсівання домішок інших клітин МСК висівали на культуральний пластик і зберігали прикріплені клітини. Для порівняння в декількох варіантах фракцію МСК відбирали за допомогою CD105-специфічного MACS-набору (Magnetic-activated *cell sorting*; Miltenyl Biotech). Для контролю гомогенності клітинної популяції та відповідності критеріям МСК в клітин, отриманих обидвома способами перевіряли експресію відповідних маркерів клітинної поверхні. Як показано за допомогою проточного флуориметра, популяції клітин, отримані обидвома способами були гомогенними, CD13, CD44, CD73, CD90, CD105 і HLA-ABC-позитивними та CD29, CD31, CD34 і HLA-DR-негативними [Korchynskyi, 2012]. Таким чином, в обидвох випадках клітинні популяції повністю відповідали всім критеріям МСК, проте, у випадку використання MACS-набору вихід клітин був нижчим більш ніж вп'ятеро.

Шляхом постійної забудови конструкції, яка експресує теломеразу та транскрипційний фактор *Bmi*, і таким чином забезпечує уникнення зупинки росту клітин, нами створено іморталізовану лінію МСК із клітин, які відповідали всім критеріям МСК, зберігали плюрипотентність та при створенні відповідних умов активно диференціювали в усіх напрямках. Нами також відпрацьовані умови для високоефективної трансдукції МСК, що дозволяє модулювати процес їх диференціації та різних її стадіях.

Таким чином, нам доступні, або нами створені, всі необхідні для успішного виконання даного проекту реактиви, клітинні лінії та біологічні препарати.

15.3. Досвід і доробок авторів.

Керівник проекту Корчинський О.Г. має більш, ніж 20-річний досвід в дослідженнях молекулярних механізмів функціонування сигнального шляху МБК [Korchynskyi & ten Dijke, 2002, Krause et al., 2010; de Gorter et al., 2011; Pulkki et al., 2011, Sountoulidis et al., 2012] та більш 15 років досліджень прозапального сигнального ланцюга ядерного фактора κB (NF- κB) [Luo et al., Nature'2007, Descargues et al., PNAS'2008]. Глибоке розуміння молекулярних механізмів, які опосередковують функціонування сигнального шляху МБК з притаманними йому кістковоіндуктивними ефектами дозволили нам також з'ясувати особливості негативної взаємодії сигнального шляху МБК та прозапального ланцюга NF- κB [Malysheva et al., 2017; Korchynskyi O, власні дослідні дані].

Патенти:

- [Голована О.І.](#), [Стойка Р.С.](#), [Геращенко С.Б.](#), та ін. Спосіб експериментального дослідження регенерації кісткового дефекту в умовах системного остеопорозу. // Заявка №а201208919 від 19.07.2012 р. Патент на винахід № 100354 від 10.12.2012 р. Опубл. Бюл. №23.
- Білий О.І., Білий Р.О., Гетьман М.Б., **Стойка Р.С.** Метод кількісної і якісної оцінки апоптозу у клітинних суспензіях. // Патент України. 16.02.2004: UA C12Q1/00, G01N15/14.
- Р.М. Левицький, Т.М. Гривул, **Р.С. Стойка.** Спосіб визначення концентрації нітрит-іонів у розчинах. Патент України. UA G01N 21/77, G01N 21/78, G01N 21/80. Опубл. 5.08.2006.

.....
Основні наукові публікації авторського колективу за тематикою роботи:
Монографії:

1. Фільченков О.О., Стойка Р.С. Апоптоз і рак: від теорії до практики. Тернопіль: Укрмедкнига. 2006. 524 с.
2. Яблонський В.А., Хомин С.П., Завірюха В.І., Демчук М.В., Стойка Р.С., Сергієнко О.І., Косенко М.В., Коцюмбас І.Я., Кусень С.Й., Сірацький Й.З. Біотехнологічні і молекулярно-генетичні основи відтворення тварин. Афіша, Львів, 2009. 218 с.

РОЗДІЛИ МОНОГРАФІЙ:

1. **Korchynskiy O.**, and ten Dijke P. Bone morphogenetic protein receptors and their nuclear effectors in bone formation. In: Vukicevich S. and Sampath K. (ed.), Bone morphogenetic proteins: From discovery to clinical applications. Birkhauser Verlag 2002, P.41-54.
2. **Korchynskiy O.**, van Bezooijen R.L., Löwik C.W.G.M, and ten Dijke P. Bone morphogenetic protein receptors and their nuclear effectors in bone formation. In: Vukicevich S. and Sampath K. (ed.), Bone morphogenetic proteins: Regeneration of Bone and Beyond Birkhauser Verlag 2004.
3. Kit Y., Bilyy R., **Stoika R.**, Mitina N., Zaichenko A. Immunogenicity and adjuvant properties of novel biocompatible nanoparticles. In: "Biocompatible Nanomaterials: Synthesis, Characterization and Applications". Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge – New York. 2010. 15 p.

Статті:

1. Kucinska-Lipka J., Gubanska I., **Korchynskiy O.**, Malysheva Kh., Kostrzewa M., Włodarczyk D., Jakub Karczewski J., Janik H. (2017) The influence of calcium glycerophosphate (GPCa) modifier on physicochemical, mechanical, and biological performance of polyurethanes applicable as biomaterials for bone tissue scaffolds fabrication. *Polymers* 9, No 8, 329. (IF: 3.364; SJR-Q1). Cited 5 times by Dec 08, 2019- According to Thompson ISI).
2. Malysheva Kh.V., Finiuk N.S., Pavlenko O.K., Havrylyuk D.Ya, Lesyk R.B., Stoika R.S., **Korchynskiy O.G.** (2017) 4-Thiazolidinone-based derivatives rescue TNA α -inhibited osteoblast differentiation in mouse mesenchymal precursor cells. *Ukr.Biochem.J.*, 89: 111-122. (SJR-Q4).
3. Malysheva Kh., de Rooij K., Löwik C.W.G.M., Baeten D.L., Rose-John S., Stoika R., **Korchynskiy O.** (2016) Interleukin 6/Wnt interactions in rheumatoid arthritis: interleukin 6 inhibits Wnt signaling in synovial fibroblasts and osteoblasts. *Croat Med J.* 57, No 2, P.89-98. (IF: 1.667; SJR-Q2). Cited 15 times by Dec 08, 2019- According to Thompson ISI).
4. Malysheva Kh.V., Spasyuk I.V., Pavlenko O.K., Stoika R.S., **Korchynskiy O.G.** Generation of optimized preparations of bone morphogenetic proteins for bone regeneration. *Ukr.Biochem.J.*, 2016; 88, No 6: 59-70. (SJR-Q4).
5. Krupak V.I., Malysheva Kh.V., Pavlenko O.K., Shafranska G.I., de Rooij K., Löwik C.W.G.M., Stoika R.S., **Korchynskiy O.G.** (2016) The PTTG1 is a novel inhibitor of osteogenic differentiation of mouse mesenchymal stem cells *The Animal Biology*, 18 No 1: 61-68.
6. Malysheva Kh.V., de Rooij K., Löwik C.W.G.M., Baeten D.L., Stoika R.S., **Korchynskiy O.G.** (2015) ShRNA-mediated knockdown of Interleukin-6 expression rescues tumor necrosis factor α -inhibited osteogenesis in mouse mesenchymal precursor cells. *Studia Biologica* 9, No 3-4, P.5-14.

7. *Yoshida K., [*Korchynskiy O.](#), Tak P.-P., Isozaki T., Ruth J.H., Campbell P.L., Baeten D.L., Gerlag D.M., Amin M.A., and Koch A.E. (2014) Citrullination of ENA-78/CXCL5 results in conversion from a non-monocyte recruiting to a monocyte recruiting chemokine. *Arthritis and Rheumat* 66, No 10, P.2716-2727. (IF: 7.764; SJR-Q1). Cited 21 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI). * - *Equal contribution*.
8. van Rijssel J., Timmerman I., van Alphen F.P.J., Hoogenboezem M., [Korchynskiy O.](#), Geerts D., Geissler J., Reedquist K.A., Niessen H.W.M., and van Buul J.D. (2013) The Rho-GEF Trio regulates a novel pro-inflammatory pathway through the transcription factor Ets2. *Biology Open* 2, No 6, P.569-79. (IF: 2.416; SJR-Q1). Cited 16 times by Mar 15, 2019- According to Thompson ISI).
9. [Korchynskiy O.](#), Adenoviral vectors: convenient tools for gene delivery to primary mammalian cells. (2012) *Biotechnology* 5, No 5, P.9-19.
10. Grabiec A.M., [Korchynskiy O.](#), Tak P.P., Reedquist K.A. (2012) Histone deacetylase inhibitors suppress rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte and macrophage IL-6 production by accelerating mRNA decay. *Annals Rheumat.Dis.* 71, No 3, P.424-31. (IF: 10.377; SJR-Q1). Cited 91 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
11. de Gorter D.J.J., van Dinther M., [Korchynskiy O.](#), and ten Dijke P. (2011) Biphasic effects of transforming growth factor- β on bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation *J. Bone Mineral Res.* 26 No 6, P.1178-87 (IF: 6.832; SJR-Q1). Cited 56 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
12. [Pulkki M.M.](#), [Myllymaa S.](#), [Pasternack A.](#), [Lun S.](#), [Ludlow H.](#), [Al-Qahtani A.](#), [Korchynskiy O.](#), [Groome N.](#), [Juengel J.](#), [Kalkkinen N.](#), [Laitinen M.](#), [Ritvos O.](#), and [Mottershead D.G.](#) (2011) The bioactivity of human bone morphogenetic protein-15 is sensitive to C-terminal modification: Characterization of the purified untagged processed mature region. *Mol.Cell. Endocrinol.* 332, No 1-2, P.106–115. (IF: 4.405; SJR-Q1). Cited 22 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
13. [Krause C.](#), [Korchynskiy O.](#), [de Rooij K.](#), [Weidauer S.E.](#), [de Gorter D.J.J.](#), [van Bezooijen R.L.](#), [Hatsell S.](#), [Economides A.N.](#), [Mueller T.D.](#), [Löwik C.W.G.M.](#) and [ten Dijke P.](#) (2010) Distinct modes of inhibition by Sclerostin on Bone Morphogenetic Protein and Wnt signaling pathways. *J Biol Chem.* 285, No 53, P. 41614–26. (SJR-Q1). (Cited 100 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
14. [*Descargues P.](#), [*Sil A.K.](#), [*Sano Y.](#), [*Korchynskiy O.](#), [Han G.](#), [Owens P.](#), [Wang X.J.](#), [Karin M.](#) (2008) IKK α is a critical coregulator of a Smad4-independent TGF β -Smad2/3 signaling pathway that controls keratinocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105, No 7, P.2487-92. (SJR-Q1). (Cited 98 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI). * - *Equal contribution*.
15. [Mottershead D.G.](#), [Pulkki M.M.](#), [Muggalla P.](#), [Pasternack A.](#), [Tolonen M.](#), [Myllymaa S.](#), [Korchynskiy O.](#), [Nishi Y.](#), [Yanase T.](#), [Lun S.](#), [Juengel J.](#), [Laitinen M.](#) and [Ritvos O.](#) (2008) [Characterization of recombinant human growth differentiation factor-9 signaling in ovarian granulosa cells.](#) *Mol. Cell. Endocrinol.* 283, No 1-2, P.58-67. (SJR-Q1). (Cited 38 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
16. [Luo J.L.](#), [Tan W.](#), [Rinoco J.M.](#), [Korchynskiy O.](#), [Zhang M.](#), [Cheresh D.](#), [Karin M.](#) (2007) Nuclear cytokine activated IKK α controls prostate cancer metastasis by repressing maspin. *Nature* 446, No 7136, P. 690-694. (Impact Factor 42.434, SJR-Q1). (Cited 301 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
17. [Nackley A.G.](#), [Shabalina S.A.](#), [Tchivileva I.E.](#), [Satterfield K.](#), [Korchynskiy O.](#), [Makarov S.S.](#), [Maixner W.](#), and [Diatchenko L.](#) (2006) Human catechol-o-methyltransferase haplotypes modulate protein expression by altering mRNA secondary structure. *Science* 314, No 5807, P. 1930-1933 (Impact Factor: 40.78; SJR-Q1). (Cited 577 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
18. [Chuva De Sousa Lopes S.M.](#), [Feijen A.](#), [Korving J.](#), [Korchynskiy O.](#), [Larsson J.](#), [Karlsson S.](#), [Ten Dijke P.](#), [Lyons K.M.](#), [Goldschmeding R.](#), [Doevendans P.](#), [Mummery C.L.](#) (2004) Connective tissue growth factor expression and Smad signaling during mouse heart development and myocardial infarction. *Dev Dyn.* 231, No 3, P. 542-550. (SJR-Q2). (Cited 64 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
19. [**Monteiro R.M.P.](#), [Chuva de Sousa Lopes S.M.](#), [Korchynskiy O.](#), [ten Dijke P.](#) and [Mummery C.L.](#) (2004) Spatio-temporal activation of Smad1, Smad5 and Smad8 *in vivo*. *J.Cell Sci.* 117 (Pt 20), P. 4653-4663. (SJR-Q1). (Cited 64 times by Mar 15, 2019- According

- to Thompson ISI). ****This work was awarded as a best Journal of Cell Science paper 2004 - See: J. Cell Sci. 118 (15), P. 3221.**
20. Mazerbourg S., Klein C., Roh J., Kaivo-Oja N., Mottershead D.G., Korchynskiy O., Ritvos O., Hsueh A.J.W. (2004) Growth differentiation factor-9 (GDF-9) signaling is mediated by the type I receptor ALK5 as well as Smad2 and Smad3 proteins. *Mol. Endocrinol.* 18, No 3, P. 653-665. (SJR-Q1). (Cited 157 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
 21. Korchynskiy O., Dechering K.J., Sijbers A.M., Olijve W., and ten Dijke P. (2003) Gene array analysis of Bone Morphogenetic Protein Type I Receptor-induced osteoblast differentiation. *J. Bone Mineral Res.* 18, No 7, P. 1177-1185. (SJR-Q1). (Cited 46 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
 22. ten Dijke P, Korchynskiy O., Valdimarsdottir G., and Goumans M.-J. (2003) Controlling cell fate by bone morphogenetic protein receptors. *Mol. Cell. Endocrinol.* 211, P. 105-113. (Cited 148 times Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI). (SJR-Q1).
 23. Korchynskiy O., and ten Dijke P. (2002) Identification and functional characterization of distinct critically important BMP-specific response elements in the Id1 promoter. *J. Biol. Chem.* 277, No 7, P. 4883-4891. (SJR-Q1). (Cited 574 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).
 24. Korchynskiy O., Korchynska O., Stoika R. (2000) Transforming growth factor b1 protects human lung adenocarcinoma cells from hyperthermia-induced apoptosis. *Experim. Oncol.* 22, No 3, P. 126-129. (SJR-Q3).
 25. Stoika R.S, Antonyuk V.O., Yakymovych I.A., Yakymovych M.Ya., Korchynsky O.G., Preobrazhenska O.V., Stasyk T.V., Kashtchak N.I., Lutsik M.D. (2000) Tumor cell response to cytotoxic lectins and heat shock *in vitro*: study of possible involvement of transforming growth factor b1. *Intl. J. Med. Biol. Environ.* 28 No1, P. 65-69.
 26. Korchynskiy O., Landstrom M., Stoika R., Funa K., Heldin C.-H., ten Dijke P., Souchelnytskyi S. (1999) Expression of Smad proteins in human colorectal cancer. *Internat. J. Cancer*, 82, P.197-202. (SJR-Q1). (Cited 88 times by Mar 15, 2019 - According to Thompson ISI).

15.4. Структура досліджень.

Дослідження в рамках даного проекту будуть виконуватися за 3-ма головними напрямками:

- 1) створення методами хімічного синтезу ковалентно зв'язаних водорозчинних тіазолідинон-бісфосфонатних нанопохідних (ТБН) та вивчення їх фізико-хімічних властивостей;
- 2) вивчення біологічної дії новостворених водорозчинних ТБН на мезенхімні стовбурові клітини та перебіг остеогенезу *in vitro* та *in vivo*;
- 3) вивчення біологічної дії новостворених водорозчинних ТБН на остеокластогенез і регуляцію апоптозу остеокластів та модуляцію співвідношення OPG/RANKL в кістковій тканині піддослідних тварин.

За результатами досліджень в рамках цих 3-х напрямків роботи буде розроблено поглиблений план досліджень *in vitro* та *in vivo* з використанням мезенхімних стовбурових клітин та остеокластів людини, а також піддослідних щурів із експериментальними кістковими дефектами. Ці тварини будуть піддані системному лікуванню досліджуваними комплексами водорозчинних форм ТБН, або ж, альтернативно, ТБН внесеними в склад остеопластичних нанорозмірних матриксів створених за допомогою електроспіннінгу.

Оцінка ефективності регенерації кісткової тканини *in vivo* буде проведена проведена недавно запатентованим нами шляхом [Годована та ін., 2012]: спосіб експериментального дослідження регенерації кісткової тканини, зокрема в умовах змодельованого системного остеопорозу при застосуванні різних за походженням кісткових та кістковопластичних матеріалів полягає у використанні абсолютно нового об'єкта дослідження, а саме хвостового хребця щура, у якому створюють штучний кістковий дефект достатнього розміру (2,5-3,5-4,5 мм) для проведення досліджень. Просте виконання запропонованого способу дозволяє тестувати будь-які кісткові матеріали штучного, тваринного чи іншого походження, зокрема досліджувати їхній максимальний регенераторний потенціал, зокрема в умовах остеопорозу кісткової тканини, та простежувати у динаміці місцеву шкірну реакцію, у порівнянні із загоєнням аналогічного дефекту під кров'яним згустком. В умовах місцевого знечуження 2 % розчином новокаїну після вистригання волосяного покриву і туалету операційного поля антисептиком проводиться лінійний поздовжній розріз 10 мм в ділянці верхньої третини хвоста щура, відшаровуються сухожилля та м'які тканини. Хвостовий хребець скелетується распатором на площу, необхідну

для створення кісткового дефекту. По центру хребця кулястим стоматологічним бором формується кістковий дефект розміром 2,5-4,5 мм і заповнюється його кістковим матеріалом. Рана ушивається поліамідним шовним матеріалом. Туалет рани здійснюється розчином брильянтового зеленого без накладання захисної пов'язки. Профілактику гнійних ускладнень здійснюється з дотриманням правил асептики і антисептики. Стимуляція процесу загоєння за допомогою антибіотикотерапії чи іншими засобами не проводиться з метою простеження ізольованого потенціалу імплантованих матеріалів. Через 60 і 120 діб по 6 тварин із кожної групи будуть виводитись з експерименту шляхом еутаназії збільшеною експозицією ефірного наркозу. Хвостовий фрагмент буде виділятися, буде зроблено знімок цифровою камерою шкірної реакції (стан рубця), та проведено рентгенографію макропрепарату. Критеріями макроскопічного дослідження слугуватимуть строки загоєння кісткового дефекту, вид загоєння, ускладнення в ділянці операційного поля, розмір кісткового дефекту, наявність і чіткість його контурів, вигляд тканини в центрі кісткового дефекту (щільність, однорідність, диференціювання). Динаміку змін та інтенсивність репаративного остеогенезу в зоні кісткового дефекту будемо оцінювати за 10-кратно збільшеними рентгенограмами. Для цього буде відділятися шкірний покрив, хребці з імплантованим матеріалом будуть вилучатись, а стан окістя над імплантованим матеріалом буде фотографуватись. Хвостові хребці будуть акуратно відпрепаровані від оточуючих м'язів, три з яких фіксуватимуться у 10 % розчині нейтрального формаліну. Декальцинацію здійснюватиметься у 10 % розчині азотної кислоти на 5% формаліні з додаванням оцтовокислого калію з розрахунку 5 г на 100 мл кислотного формалінового розчину [за Б.А. Віленсоном, 1950]. Зневоднення зразків проводитиметься у розчинах етилового спирту зростаючої концентрації, після чого їх буде залито у парафін. Зрізи забарвлюватимуться гематоксиліном та еозином за стандартною методикою. Мікрофотографування проводитиметься за допомогою мікроскопа Axioskop, перехідного оптичного пристрою Optem 257010, цифрової камера Nikon Coolpix 5400. Збільшення на мікрофотографіях 13×9 (см) визначатиметься за допомогою тестового зразка "МИРА" (ГК 7.216.028-01, виробництво НДІ "Квант"). Реальне збільшення на мікрофотографіях складає, відповідно, для об'єктива x10 - x75, для об'єктива x20 - x150, для об'єктива x40 - x300. Для вивчення морфології поверхні контакту імплантованих матеріалів з кістковою тканиною наступні три хребці фіксуватиметься в 4 % розчині глутаральдегіду, послідовно зневоднюватиметься у зростаючих розчинах спиртів 10, 40, 70 %. Зневоднені зразки будуть приклеєні на латунні циліндрики оберненим боком сколу до поверхні столика. На свіжі сколи кісткової тканини проводитиметься напилення тонких шарів міді методом термічного напилення у вакуумному запилювачі ВУП-5. Дослідження металізованих поверхонь сколів фосфоритів буде проводитись на сканувальному електронному мікроскопі JEOL-T220A (JEOL, Японія).

15.5. Наявність матеріально-технічної бази для виконання роботи.

У відділі регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини Національної академії наук України наявна наступна матеріально-технічна база, необхідна для реалізації запланованого проекту:

- CO₂-інкубатор (New Brunswick, USA) для культивування клітин;
- Ламінарні бокси (4 штуки) для робіт з клітинами у стерильних умовах (Електроніка);
- Апаратура (камери і блоки живлення) для електрофоретичного аналізу білків і ДНК (BioRad, США);
- Флуоресцентний мікроскоп (Carl Zeiss Jena, Germany);
- Інвертований мікроскоп (БіоЛам, Російська Федерація);
- Інвертований мікроскоп Shanghai Instruments з цифровою камерою EasyPic (Китай);
- Цитофлуориметр (Becton Dickinson);
- Апаратура для перемішування: вортекс-мішалка (Biosan), струшувач (Biosan), магнітні мішалки (Biosan);
- Центрифуга типу Еппендорф з охолодженням (Jouan, Франція);
- Мікроспектрофотометр (NanoDrop, США);
- Прилад для високоефективної рідинної хроматографії (HPLC, BioRad);
- Віварій (розрахований приблизно на 400 мишей).

Крім того, керівнику проекту, як доценту медичного факультету Жешувського університету (Жешув, Польща) є вільно доступним наступне обладнання:

- Флюориметр/люмінометр Tecan (Швейцарія)
- Інвертований флуоресцентний мікроскоп (Carl Zeiss Jena, Germany)
- Конфокальний мікроскоп (Carl Zeiss Jena, Germany)
- Прилад для кількісної ланцюгової реакції (Real-time PCR, Cobas 4800, Roche, Switzerland).
- Прилад для мультиплексного аналізу (Luminex, France).
- Низькотемпературні морозильники -80°C та -150°C (Hitachi, Japan).
- Ультрацентрифуга Beckton XL-A.

16. Техніко-економічне обґрунтування

н е м а є

17. Власна оцінка науково-технічного рівня розробки, що пропонується, яка очікується за результатами наукової, науково-технічної роботи

[X] немає аналогів у світі або краща за існуючі у світі аналоги
 [] немає аналогів в Україні
 [] краща за існуючі в Україні аналоги за всіма основними показниками
 [] перевищує існуючі в Україні аналогічні розробки за окремими показниками

18. Використання результатів роботи

18.1. Очікувані наукові та науково-практичні результати, об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), які плануються до впровадження після завершення роботи

Найменування результатів, ОІВ	Назва підприємства, організації, де передбачається використовувати результати, ОІВ	Заплановані обсяги впровадження
На підставі отриманих результатів будуть опубліковані статті в журналах, що входять до наукометричної бази даних Scopus, до переліку фахових видань України і мають ISSN, а також будуть зроблені доповіді на міжнародних та вітчизняних науково-практичних конференціях і будуть опубліковані тези цих конференцій. Крім того, будуть опубліковані розділи у міжнародних монографіях. Заплановано також подати заявку на Патент України на винахід, а у випадку відповідної комерційної доцільності - заявку на Патент європейського зразка.	Інститут біології клітини НАН України, Національний медичний університет ім.Данила Галицького, Львів та Військово-медичний клінічний центр державної прикордонної служби України	3 наукові статті в журналах, що входять до наукометричної бази даних Scopus, 4 наукові статті фахових видань України 1 Патент України на винахід, а у випадку відповідної комерційної доцільності - 1 заявка на Патент європейського зразка.

18.2. Шляхи та способи подальшого використання в суспільній практиці результатів виконання роботи

В результаті виконання проекту будуть напрацьовані технологічні схеми створення остеотропних протизапальних тіазолідиново-бісфосфонатних похідних для лікування остеопорозу та внесеними в остеоіндукуючий матрикс створений методом електроспіннингу з метою посилення остеогенезу. Згадані методи лікування будуть запропоновані для використання в ортопедичній і стоматологічній медичній практиці.

Результати виконання проекту будуть представлені на міжнародних наукових форумах та опубліковані у вітчизняних фахових та міжнародних наукових виданнях, що входять до наукометричних баз даних (Thompson ISI, Scopus) та з високим рівнем імпаکت-фактору. Планується подання патенту на винахід і впровадження одержаних результатів у діяльність ортопедичних та стоматологічних клінік України, зокрема Львова.

18.3. Потенційні споживачі наукових та науково-технічних результатів, об'єктів права інтелектуальної власності (ОІВ)

н е м а є

19. Об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), використання яких передбачається під час проведення досліджень (для прикладних досліджень та фундаментальних, де використовуються ОІВ)

н е м а є

20. Фінансові аспекти роботи

20.1. Загальна вартість роботи 1500,000 тис. грн.

словами: один мільйон п'ятсот тисяч грн.

20.2. Вартість роботи:

Роки виконання роботи	2020 р.	2021 р.	2022 р.	2023 р.	2024 р.
Вартість виконання робіт (тис. грн.)	250,000	300,000	300,000	300,000	350,000

21. Наукові ради (комітети, комісії) НАН України, ради регіональних наукових центрів НАН і МОН України, яких доцільно залучити до експертної оцінки запиту

н е м а є

22. Кандидатури можливих експертів у галузі, до якої відноситься робота, що пропонується

Прізвище, ім'я, по батькові	Науковий ступінь, посада	Місце роботи
Колибо Денис Володимирович	д.б.н., проф., головний науковий співробітник	Ін-т біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України
Бобицький Ярослав Васильович	д.т.н., проф., завідувач кафедри	НУ "Львівська політехніка", м.Львів
Петренко Олександр Юрійович	д.б.н., проф., завідувач	Харківський національний університет, кафедра біохімії

23. Додатки, що є невід'ємною частиною запиту:

1. Технічне завдання на виконання роботи (Додаток А).
2. Планова калькуляція кошторисної вартості роботи (Додаток Б).

04.03.2020

дата

Директор
Інституту біології клітини НАН України
академік НАН України



Андрій СИБІРНИЙ

(підпис)

М.П.

Науковий керівник роботи

Старший науковий співробітник
Інституту біології клітини НАН України
к.б.н.

Олександр КОРЧИНСЬКИЙ

(підпис)

ПОГОДЖЕНО

Директор
Інституту біології клітини НАН України
академія НАН України

_____ Андрій СИБІРНИЙ
(підпис)
« 04 » _____ 20 20 р.
_____ М.П.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Уповноважена особа НАН України

_____ (підпис)
« _____ » _____ 20 ____ р.
_____ М.П.

ТЕХНІЧНЕ ЗАВДАННЯ
на виконання наукової (науково-технічної) роботи

«Створення новітніх багатофункціональних тіазолінідонових наноматеріалів зі скерованим остеомодулюючим ефектом для остеопластики та лікування остеопорозу»

Цільова програма фундаментальних досліджень НАН України «Перспективні фундаментальні дослідження та інноваційні розробки наноматеріалів і нанотехнологій для потреб промисловості, охорони здоров'я та сільського господарства» на 2020–2024 рр.

Інститут біології клітини НАН України

1. Рішення про затвердження роботи

2. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

3. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій

4. Код та назва наукового напрямку або проблеми з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук (для фундаментальних досліджень)

2.2.4.4. Вивчення впливу наночастинок і нанокompatитів на метаболізм нормальних і пухлинних клітин та розробка підходів до таргетної терапії

5. Основний напрям наукової діяльності установи, за яким проводяться роботи

Дослідження молекулярних механізмів регуляції проліферації, диференціації та апоптозу у нормальних та пухлинних клітинах тварин і людини.

6. Мета роботи

Розробити технологію і створити водорозчинні тіазолідинонові наноматеріали із остеотропними та остеомодулюючими властивостями для ефективної остеопластики і лікування остеопорозу

7. Термін проведення роботи:

початок — 01 квітня 2020 р. ; закінчення — 31 грудня 2024 р.

Орієнтовний обсяг коштів на виконання роботи в цілому **1500,000** тис. грн.
та по роках

2020 р. — 250,000 тис. грн.
2021 р. — 300,000 тис. грн.
2022 р. — 300,000 тис. грн.
2023 р. — 300,000 тис. грн.
2024 р. — 350,000 тис. грн.

8. Календарний план роботи

№ з/п	Найменування основного етапу роботи	Термін виконання	Відповідальний виконавець
1	Розробка технології хімічного синтезу остеотропних тіазолідинонових похідних та перевірка їх впливу на остеогенну диференціацію in vitro	01 квітня 2020 р. - 31 грудня 2020 р.	
2	Вивчення впливу остеотропних тіазолідинонових похідних на остеокластогенез, інтенсивність апоптозу остеокластів та їх функціональну активність	01 січня 2021 р. - 31 грудня 2021 р.	
3	Оптимізація внесення мезенхімних стовбурових клітин-попередників людини в кістковопластичні матрикси, що містять остеотропні тіазолідинонові похідні	01 січня 2022 р. - 31 грудня 2022 р.	к.б.н., О.Г. Корчинський.

4	Дослідження <i>in vivo</i> впливу остеотропних тiazолідинонових похідних на ефективність остеопластики та зниження ресорбції кісткової тканини при остеопорозі	01 січня 2023 р. - 31 грудня 2023 р.	
5	Дослідження та розробка рекомендацій по ефективному використанню остеотропних тiazолідинонових похідних в ортопедичній та стоматологічній медичній практиці.	01 січня 2024 р. - 31 грудня 2024 р.	

9. Зміст, основні вимоги до виконання роботи, рівня і способів її виконання

У ході виконання проекту буде здійснено оцінку біологічної активності (остеоіндуктивні властивості) нових форм біологічно активних речовин, а саме модифікованих бісфосфонатними групами раніш відібраних тiazолідинонів, синтезованих на умовах наукової співпраці на кафедрі фармакології Національного медичного університету ім.Данила Галицького (Львів). Дослідженню будуть піддані ковалентно зв'язані тiazолідинон-бісфосфонатні нанопохідні (ТБН), в першу чергу їх водорозчинні форми.

Остеоіндуктивні властивості новостворених продуктів буде досліджено щодо мезенхімних стовбурових клітин та остеокластів тварин і людини *in vitro*, а також проаналізовано їх здатність модулювати регенерацію кістки *in vivo*. Первинна оцінка остеоіндуктивних та протизапальних властивостей тiazолідинон-бісфосфонатних похідних здійснюватиметься за їх активністю до модуляції активації люциферазних репортерних систем. Найбільш ефективні варіанти ТБН оцінюватимуться за допомогою остеогенезу *in vitro* (за активністю лужної фосфатази спектрофотометрично з використанням *p*-нітрофеніл фосфату (*p*-NPP) та гістологічним методом); за акумуляцією мінералів $Ca_3(PO_4)_2$ (виявленою гістологічно за забарвленням Алізариновим червоним); вмістом РНК (кількісна ПЛР) і білкових продуктів (Вестерн-блот аналіз) генів-маркерів остеогенезу, а також за результатами цитоморфологічного та імуногістохімічного дослідження з використанням світлової і флуоресцентної мікроскопії. Якість регенерації кісткових дефектів та щільність кісток (bone mineral density, BMD) *in vivo* буде оцінюватись гістологічно та за допомогою рентгенографії та мікро-комп'ютерної томографії (μ -СТ) на базі Жешувського університету (Польща). Особлива увага буде надана гістологічному дослідженню (TUNEL assay) імовірних небажаних проапоптичних ефектів бісфосфонатів на остеокласти. У випадку виявлення таких ефектів буде проведено дослідження *in vitro* впливу ТБН на остеокластогенез, регуляцію апоптозу остеокластів та модуляцію співвідношення OPG/RANKL в кістковій тканині піддослідних тварин.

При виконанні запланованої науково-дослідної роботи дослідники зобов'язуються дотримуватись правил техніки безпеки у хімічних лабораторіях. Дослідження з використанням лабораторних тварин (щурів) будуть проведені з дотриманням біоетичних норм, прийнятих в Україні і країнах Європейського Союзу. Під час аналізу отриманих результатів дослідники зобов'язуються проводити статистичну оцінку достовірності різниці або кореляції отриманих числових даних.

10. Наукові (науково-технічні) результати, що очікуються за основними етапами та роботою в цілому

1. Рекомендації щодо створення та використання в ортопедичній та стоматологічній медичній практиці водорозчинних тіазолідинонових нанопрепаратів скерованої остеотропної дії для модуляції остеогенезу та ефективного локального і системного захисту кісткової тканини від негативної дії запальних процесів в ході остеопластики та при зікування остеопорозу.
2. Рекомендації щодо створення та використання в ортопедичній та стоматологічній медичній практиці багатофункціональних кістковопластичних матеріалів, що базуються на індукції остеогенезу морфогенетичними білками кістки і модуляції запальних процесів та остеогенезу в зоні остеопластики остеотропними тіазолідиноновими нанопрепаратами.
3. Публікація отриманих результатів досліджень в журналах з високим рівнем рецензування (Імпакт-Фактор).
4. Патентування технології виробництва новостворених кістковопластичних матеріалів оптимізованого складу.
5. Перспектива участі у Європейських міжнародних програмах: Horizon2020, CORDIS (FP7), CRDF, SCOPES, Eureka, COST.

11. Перелік науково-технічної та іншої документації, що надається по завершенню роботи

Звіт про виконання наукового проекту; кошторис фактичних витрат із розрахунками за статтями; перелік статей накладних витрат. На підставі отриманих результатів будуть опубліковані статті в журналах, що входять до наукометричної бази даних Scopus, до переліку фахових видань України і мають ISSN, а також будуть зроблені доповіді на міжнародних та вітчизняних науково-практичних конференціях і будуть опубліковані тези цих конференцій. Крім того, будуть опубліковані розділи у міжнародних монографіях. Заплановано також подати заявку на Патент України на винахід”, а у випадку відповідної комерційної доцільності - заявку на Патент європейського зразка.

Науковий керівник роботи

Старший науковий співробітник
Інституту біології клітини НАН України
к.б.н.



Олександр КОРЧИНСЬКИЙ
(підпис)

Планова калькуляція кошторисної вартості наукової (науково-технічної) роботи

**«Створення новітніх багатофункціональних тіазолідинових наноматеріалів зі
скерованим остеомодулюючим ефектом для остеопластики та лікування
остеопорузу »
на 2020 рік**

Термін виконання роботи: початок — 01.04.2020 р., закінчення — 31.12.2024 р.

№ з/п	Найменування статей витрат	КЕКВ	Сума, тис. грн.
1	Заробітна плата	2111	30,000
2	Нарахування на оплату праці	2120	6,600
3	Предмети, матеріали, обладнання та інвентар	2210	113,400
4	Оплата послуг (крім комунальних)	2240	10,000
5	Видатки на відрядження	2250	15,000
6	Оплата водопостачання та водовідведення	2272	10,000
7	Оплата електроенергії	2273	40,000
8	Оплата природного газу	2274	25,000
Разом:			250,000
в т.ч. накладні витрати			2,750
% їх до основної заробітної плати			10,0%

УСТАНОВА-ВИКОНАВЕЦЬ:

Директор
Інституту біології клітини НАН України
академік НАН України

25255758

(підпис)

Андрій СИБІРНИЙ

М.П.

Науковий керівник роботи
Старший науковий співробітник
Інституту біології клітини НАН України
к.б.н.

Олександр КОРЧИНСЬКИЙ

(підпис)