

Відзив

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Мордерера Дмитра Євгеновича

**«ІДЕНТИФІКАЦІЯ Ca^{2+} -ЗАЛЕЖНОГО ФОСФОРИЛЮВАННЯ
СКАФOLDНОГО БІЛКА ITSN1 ТА ЙОГО ВЗАЄМОДІЇ З
ЦИТОСКЕЛЕТНИМ БІЛКОМ STOP У НЕЙРОНАХ»,**

представленої до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія

Дисертаційна робота Мордерера Д.Є. присвячена вивченню функціонування скафолдного білка ендоцитозу ITSN в нейронах, зокрема пошуку нових білків-партнерів ITSN1 в нейронах та перевірці наявності Ca^{2+} -залежного фосфорилювання цього білка. **Актуальність цієї роботи** полягає в необхідності розширення сучасних знань про функціонування скафолдних білків, зокрема ITSN1, як важливих компонентів клітинних систем, що забезпечують формування та функціонування молекулярних комплексів, необхідних клітині для життєдіяльності та виконання своїх біологічних функцій. Крім того, ITSN1 залучений до розвитку низки патологій нервової системи, зокрема синдрому Дауна, хвороби Альцгеймера та хореї Гентінгтона, що обумовлює важливість дослідження його ролі у нейронах. Таким чином, пошук партнерів ITSN1 в нейронах та визначення його впливу на розвиток та функціонування нейронів є актуальною задачею. Крім того, важливим є визначення посттрансляційних модифікацій білка, які можуть бути інструментом для регуляції його активності.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Робота відповідає основному плану досліджень, що проводяться у відділі функціональної геноміки Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Автор брав участь у виконанні 4-х науково-дослідних тем відділу, а саме «Організація і регуляція ITSN-залежних шляхів (державний реєстраційний номер №0106U005435, 2007-2011 рр.), «Молекулярні

взаємодії інтерсектинів як компонентів ендоцитозу, перебудов актинового цитоскелету та підтримки вірусної латентності» (державний реєстраційний номер №0111U008918 2012-2016 рр.), «Патології людини: від молекулярного до клітинного рівня» (державний реєстраційний номер №0113U002831, 2013-2016 рр.), “Молекулярні механізми клітинної сигналізації в нормі та патології: фокус на іонні канали” (номер F46.2/001, 2010-2012 рр.).

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Робота ґрунтується на значному обсязі експериментального матеріалу, виконана на сучасному науковому і методичному рівні. Отримані дисертантом результати поглиблюють сучасні уявлення про функціонування ITSN1 в нейронах. Всі положення та висновки, наведені у дисертації, є науково обґрунтованими.

Вперше ідентифіковано новий партнер ITSN1 у нейронах – цитокелетний білок STOP та визначено, що взаємодія відбувається через SH3A-домен ITSN1. Крім того, показано часткову ко-локалізацію ITSN1 та STOP у сомі та дендритах первинних нейронів гіпокампу щурів. На жаль, в дисертаційній роботі нема відповіді на питання про те, яке функціональне значення має ця взаємодія. Виглядає досить ймовірним припущення про те, що ця взаємодія може грати роль у транспорті везикул або молекулярних комплексів, пов'язаних з ITSN1, вздовж мікротрубочок у нейронах.

Автором показано, що пригнічення експресії гена *ITSN1* призводить до скорочення довжини дендритів первинних нейронів гіпокампу щурів, яке є цікавим з огляду на участь ITSN1 в розвитку синдрому Дауна, оскільки зменшення довжини дендритів спостерігається у головному мозку хворих на ранніх періодах життя. Автором висловлено декілька припущень щодо можливих молекулярних механізмів участі ITSN1 у цьому процесі. Одним з них є взаємодія ITSN1 зі STOP, оскільки пригнічення експресії гену, який кодує STOP, також впливає на ріст дендритів. На жаль, прямих підтверджень на користь цього припущення в роботі не отримано, проте воно відкриває

перспективи для подальшого продовження роботи з визначення функціонального значення взаємодії між ITSN1 та STOP.

Вперше продемонстровано наявність Ca^{2+} -залежного фосфорилування ITSN1 та визначено його сайти, що відкриває перспективи щодо досліджень його ролі у регуляції білок-білкових взаємодій ITSN1. На жаль, поки що це фосфорилування продемонстровано лише в експериментах *in vitro*, тому питання відносно його існування та ролі у живих клітинах залишається відкритим для подальших досліджень. Водночас, автором було вперше відмічено наявність ділянок, збагачених на залишки серину та треоніну, у міждомених лінкерах ITSN1. Автором зроблено припущення, що ці ділянки можуть бути новими, раніше невідомими функціональними сайтами ITSN1, важливими для регуляції його активності, оскільки їх фосфорилування було показано і в інших роботах. Це питання є цікавим і, безперечно, стане темою подальших досліджень.

Практичне значення одержаних результатів у першу чергу полягає у розширенні існуючих знань про роль ITSN1 у нейронах, його білок-білкові взаємодії та пост-трансляційні модифікації. Отримані результати в перспективі можуть стати підґрунтям для розробки інструментів впливу на активність ITSN1, які можуть використовуватись для управління ITSN1-залежними процесами при патологіях нервової системи.

Особистий внесок здобувача.

Викладені в дисертаційній роботі результати було отримано особисто здобувачем або за його безпосередньої участі.

Повнота викладу результатів у наукових публікаціях.

За темою дисертації опубліковано 5 статей у фахових наукових журналах та 8 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій. Серед цих публікацій дві статті було опубліковано в міжнародних журналах, а також зроблено низку доповідей на міжнародних конференціях. Таким чином, дисертація пройшла гарну апробацію.

Оцінка мови і стилю дисертації.

Дисертація в цілому написана грамотною науковою мовою логічно і послідовно.

Структура дисертації.

Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, експериментальної частини, аналізу та узагальнення результатів, висновків і списку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації – 140 сторінок машинописного тексту. Ілюстративний матеріал дисертації подано у вигляді 39 рисунків та 4 таблиць. Список використаної літератури охоплює 224 найменування.

Дисертація побудована за традиційним принципом. У **вступі** автор описує роль ITSN1 у клітині та у розвитку патологій нервової системи. На мою думку, у підрозділі «Актуальність теми» необхідно було б більше розповісти про відомі на сьогодні функції ITSN1, що дозволило б логічніше обґрунтувати мету та завдання роботи. Крім того, у підрозділі «Практичне значення одержаних результатів» вказано, що виконання мети «може сприяти розробці терапевтичних підходів» для лікування захворювань, з розвитком яких асоційований ITSN1. На мою думку, таке твердження є дещо передчасним і недостатньо обґрунтованим.

Розділ «**Огляд літератури**» складається з п'яти підрозділів, що описують усі положення роботи і роблять вступ до експериментальної частини. Інформація в цьому розділі викладена логічно і відповідає тим питанням, які було розглянуто в дисертаційній роботі.

Матеріали і методи дослідження – відповідають меті та завданням роботи та сучасному науковому рівню. Дисертантом застосовано різноманітні методи молекулярної та клітинної біології.

В **експериментальній частині** викладено результати, отримані в дисертаційній роботі. Кожен підрозділ цього розділу закінчується висновком і коротким обговоренням, що залишає приємне враження для читача.

Останній розділ роботи «Узагальнення одержаних результатів» проводиться співставлення отриманих результатів з даними літератури, які відомі на сьогодні. В кінці цього розділу автор робить спробу логічного поєднання своїх результатів між собою та з результатами інших дослідників і пропонує гіпотетичну схему, яка пояснює можливі взаємозв'язки між взаємодією ITSN1 зі STOP, впливом ITSN1 на ріст дендритів та Ca²⁺-залежним фосфорилуванням ITSN1.

Окремі дискусійні питання та зауваження до дисертації.

Опонент не має принципових зауважень до дисертації. Між тим, робота викликає декілька запитань:

1. Чим можна пояснити специфічність SH3A-домену в порівнянні з іншими SH3-доменами ITSN1 щодо взаємодії зі STOP?
2. Чи може взаємодія між STOP та ITSN1 грати певну роль у транспорті везикул або макромолекулярних комплексів вздовж мікротрубочок?
3. Чи можна логічно пов'язати взаємодію ITSN1 зі STOP та його вплив на розвиток дендритного дерева?
4. Чи може існувати взаємозв'язок між Ca²⁺-залежним фосфорилуванням ITSN1 та його взаємодією зі STOP?
5. Яка можлива роль Ca²⁺-залежного фосфорилування у функціонуванні ITSN1?

Однак, всі зазначені запитання не впливають на загальну позитивну оцінку роботи. Отримані дисертантом результати є досить вагомими і вносять суттєвий вклад в розуміння закономірностей перебігу і регуляції ITSN1-залежних процесів у клітині

Висновок.

Враховуючи вищезазначене, вважаю, що дисертаційна робота Мордерера Д.Є. присвячена важливій науковій і практичній проблемі, представляє собою завершену наукову працю, що за актуальністю проблеми, методичним забезпеченням, науковою новизною та практичним значенням

результатів досліджень відповідає вимогам, які ставить ДАК України до кандидатських дисертацій, а її автор, Мордерер Дмитро Євгенович, заслуговує на присудження йому наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.03 – молекулярна біологія.

Завідувач відділу нейрохімії

Інституту біохімії імені О.В. Палладіна

доктор біологічних наук, професор

Борисова Т.О.