

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Рысенковой Марины Дмитриевны на тему: «Молекулярные механизмы участия урокиназного рецептора в дифференцировке и выживаемости клеток нейробластомы мыши», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

Актуальность исследования Рысенковой К.Д. связана с фундаментальным вопросом – выяснением молекулярных механизмов дифференцировки и выживаемости нервных клеток, что лежит в основе понимания процесса иннервации во взрослом организме, а также является одним из важных направлений исследований в области регенеративной медицины. Полученные в работе Рысенковой К.Д. данные по участию урокиназного рецептора вместе с тирозинкиназными рецепторами (EGFR и Trk) в росте нейритов нервной клетки и защите нервных клеток от апоптоза, могут послужить для решения актуальной практической задачи – разработки терапевтического подхода для восстановления нерва после травмы.

Целью работы является определение молекулярного механизма, опосредующего участие рецептора урокиназы (uPAR) в процессах дифференцировки и выживаемости линейных клеток нейробластомы мыши Neuro2a с участием рецепторных тирозинкиназ EGFR и Trk.

В работе использованы современные молекулярно-генетические методы для манипуляций с экспрессией гена *uPAR* в линейных клетках нейробластомы мыши. Для нокаута гена *uPAR* автором разработан протокол редактирования генома клеток Neuro2a с применением системы редактирования генома CRISPR/Cas9.

Автором установлено, что по мере дифференцировки клеток Neuro2a и роста нейритов в клетках возрастает экспрессия мРНК *uPAR*. Анализ внутриклеточной сигнализации в клетках Neuro2a методом иммуноблоттинга показывает, что блокирование активности *uPAR* снижает уровень фосфорилированной формы EGFR и его нисходящих мишеней, киназ Erk1/2, что коррелирует с потерей клетками Neuro2a маркера дифференцированных нейронов NeuN через 24 ч воздействия. На более отдаленных временных интервалах (до 72 ч) наблюдается снижение числа клеток в культуре, сопровождающееся усилением деградации ДНК в клетках.

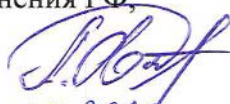
Автором получены два клеточных клона, в которых не детектируется экспрессия белка *uPAR*. Отсутствие *uPAR* коррелирует с достоверным снижением экспрессии рецептора нейротрофинов TrkC, который также важен для выживаемости нейронов. Анализируя жизненный цикл полученных *uPAR*-дефицитных клеток по сравнению с клетками дикого типа, автор показала снижение скорости деления клеток и присутствие маркеров активации апоптоза в этих клетках.

Автор показала также, что гиперэкспрессия *uPAR* сопровождается ростом фосфорилированной формы EGFR. Эта оценка выполнена на основании количественного обсчета микрофотографий после иммунофлуоресцентного окрашивания клеток Neuro2a. На уровне внутриклеточной сигнализации активация EGFR сопровождается активацией Erk1/2 в клетках, экспрессирующих *uPAR*, чего не наблюдается при нокауте урокиназного рецептора. Активация EGFR (под действием EGF) стимулирует нейритогенез только в

клетках, экспрессирующих uPAR (гиперэкспрессирующих uPAR и контрольных), а при подавлении активности EGFR нейритогенез происходит только в клетках, гиперэкспрессирующих uPAR. Отмечено также, что более длительное подавление активности EGFR (120 ч) индуцирует рост нейритов во всех типах клеток (дикого типа и клонах uPAR⁺ и #6). На мой взгляд, этот эффект можно объяснить подавлением пролиферативной активности клеток и запуском дифференцировки.

На основании анализа автореферата можно заключить, что представленная работа полностью соответствует п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 №1168), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Рысенкова Карина Дмитриевна, заслуживает присуждения степени кандидата наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

старший научный сотрудник
лаб. клеточной подвижности
Института экспериментальной кардиологии
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр кардиологии» Министерства здравоохранения РФ,
кандидат биологических наук
по специальности 03.01.04 – «Биохимия»


30.10.2020

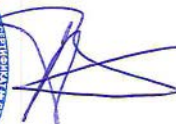
Хапчаев Аскер Юсуфович

Адрес Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» МЗ РФ: 121552, Москва, 3-я Черепковская 15А
Тел: +7(905)7000169
E-mail: AYKhapchayev@cardio.ru

Подпись А.Ю. Хапчаева заверяю

д.м.н., ученый секретарь НИИЭК
ФГБУ НМИЦ кардиологии





Плекханова О. С.