

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Кочкиной Екатерины Николаевны
«Вклад различных изоформ IP_3 -рецептора в Ca^{2+} сигнализацию
в клетках НЕК293», представленный на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2
Биофизика.

Диссертация Кочкиной Екатерины Николаевны посвящена выявлению функциональных различий между изоформами IP_3 -рецепторов и оценке их вклада в механизмы кальциевой сигнализации в клеточной линии НЕК-293.

В своей работе Екатерина Николаевна провела сравнительный анализ Ca^{2+} -сигнализации, индуцированной ацетилхолином, в клетках дикого типа и в клетках с нокаутом всех генов IP_3 -рецепторов (ТКО-НЕК), а также в уникальных моноклональных линиях, экспрессирующих только одну изоформу IP_3 -рецептора (IP_3R1 -НЕК, IP_3R2 -НЕК, IP_3R3 -НЕК).

Актуальность исследования обусловлена фундаментальной ролью кальциевой сигнализации, опосредованной GPCR-рецепторами, в регуляции физиологических процессов в клетках. Функциональная специализация изоформ IP_3 -рецепторов, определяющих специфику этой сигнализации в разных типах клеток, остаётся малоизученной. В своем исследовании Екатерина Николаевна экспериментально продемонстрировала, что каждая изоформа способна независимо обеспечивать генерацию Ca^{2+} -сигналов по принципу «всё или ничего», оценила их относительный вклад в утечку Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума (ЭР) и разработала методику оценки Ca^{2+} -проницаемости его мембраны.

В данной работе применен широкий спектр современных методов клеточной биологии и биофизики, таких как мониторинг внутриклеточного кальция с помощью флуоресцентных зондов (Fluo-8, R-CEPIA1er), фотохимическое высвобождение вторичного мессенджера (IP_3 -uncaging), методы молекулярной биологии для характеристики клеточных линий, а также была разработана новаторская методология оценки относительной Ca^{2+} -проницаемости мембраны ЭР в нестимулированных клетках. Полученные

данные, о том, что разные изоформы по-разному опустошают депо при стимуляции, расширяют современные представления о кальциевом гомеостазе и механизмах генерации агонист-индуцированных Ca^{2+} -сигналов. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах, глава в книге и 8 тезисов конференций.

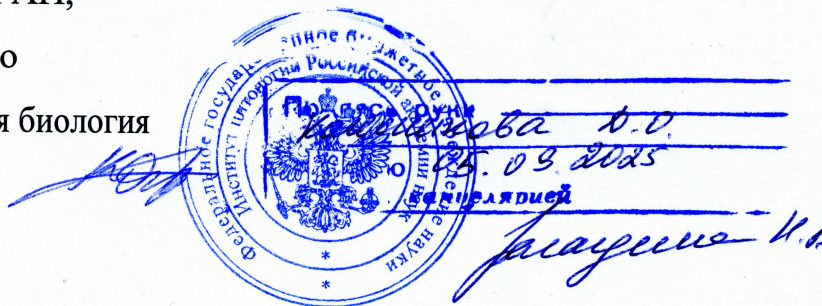
Автореферат написан академическим языком, материал изложен четко, приведены исчерпывающие разъяснения полученных результатов и их интерпретации. Тем не менее, после прочтения автореферата возникает несколько вопросов и замечаний:

1. В интерпретации данных тапсигаргинового теста (рис. 7) выдвинута гипотеза о возможном функциональном сопряжении IP_3R_2 с депо-управляемыми кальциевыми каналами. Какие дополнительные экспериментальные данные, помимо анализа распределения скоростей входа, поддерживают это предположение? Является ли это прямым взаимодействием или опосредованным через изменения уровня Ca^{2+} в ЭР?
2. В рисунках 7 и 8 автор показал гетерогенность клеточных субпопуляций, различающихся скоростями Ca^{2+} -выброса, депо-управляемым входом Ca^{2+} и расчетной базальной Ca^{2+} проницаемостью мембраны ЭР. Чем можно объяснить существование таких субпопуляций в моноклональных линиях?
3. Гипотеза о роли аннексина A1 в различиях в скорости выброса кальция между клональными линиями, экспрессирующими различные изоформы IP_3R , требует экспериментальной проверки. Планируются ли эксперименты с модуляцией ANXA1?
4. В работе показано, что все три изоформы способны поддерживать ключевой механизм Ca^{2+} -индуцированного выброса, депонированного Ca^{2+} . Какие, по мнению автора, физиологические преимущества дает наличие

трех изоформ с разными свойствами (аффинностью к IP_3 , базальной утечкой), если их ключевая функция дублируется?

Сделанные замечания не умаляют достоинства данной работы, которая является исследованием высокого уровня. Считаю, что диссертационная работа «Вклад различных изоформ IP_3 -рецептора в Ca^{2+} -сигнализацию в клетках НЕК-293» по актуальности темы, методическому уровню, новизне и достоверности полученных результатов, их теоретической и практической значимости является законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям пп. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор, Кочкина Екатерина Николаевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. — Биофизика.

Отзыв составил научный сотрудник
лаборатории ионных каналов клеточных мембран
ФГБУН Института Цитологии РАН,
кандидат биологических наук по
специальности 1.5.22—клеточная биология
Колесников Дмитрий Олегович



Контактные данные:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, Адрес: 194064, Тихорецкий проспект 4, Санкт-Петербург, Россия

Мобильный телефон: + 7 (963) 343 45 13

Email: koledmi3@mail.ru

5 сентября 2025 года.

Председателю совета по защите диссертаций
на соискание ученой степени кандидата наук,
на соискание ученой степени доктора наук
24.1.232.01 (Д 002.285.01)
на базе Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр
«Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии наук»
д.б.н., профессору Озолинь О.Н.

Уважаемая Ольга Николаевна!

Я, Колесников Дмитрий Олегович, согласен на включение моих персональных данных в аттестационное дело и дальнейшую их обработку, необходимую на основании нормативных документов Правительства, Минобрнауки и ВАК, на размещение их в сети Интернет на сайте ФИЦ ПНЦБИ РАН, на сайтах ВАК, в Единой информационной системе.

Колесников Дмитрий Олегович  подпись

к.б.н., научный сотрудник лаборатории ионных каналов
клеточных мембран ФГБУН Института Цитологии РАН

Почтовый адрес:

194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, д. 4

Телефон: + 7 (963) 343 45 13

E-mail: koledmi3@mail.ru

5 сентября 2025 г.

Подпись руки
Колесникова Д.О.
5.09.2025
канцелярией

