



УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора ИТЭБ РАН

д.ф.-м.н., проф.

Акатов В.С.

«18» февраля 2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук

Диссертационная работа «Регуляция неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР) и генерации супероксид-аниона пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля» выполнена в лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН). В период подготовки диссертации соискатель Харечкина Екатерина Сергеевна работала в лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности в должности исполняющего обязанности младшего научного сотрудника, затем младшего научного сотрудника.

В 2013 году Харечкина Екатерина Сергеевна закончила биологический факультет Самарского государственного университета по специальности «Биология». С 2013 по 2015 обучалась в магистратуре Пушкинского государственного естественно-научного института по направлению «Биология». С 2015 по 2019 обучалась в очной аспирантуре ИТЭБ РАН по специальности «Биохимия». Диплом об окончании аспирантуры № 105004 0008123 с информацией о сдаче кандидатских экзаменов выдан 31.10.2019 ИТЭБ РАН.

Научный руководитель: кандидат биологических наук, Круглов Алексей Георгиевич, старший научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии ИТЭБ РАН.

По итогам обсуждения диссертации «Регуляция неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР) и генерации супероксид-аниона пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля» принято следующее заключение:

Оценка выполненной работы. Диссертация Харечкиной Е.С. является научно-квалификационной работой и посвящена исследованию механизмов регуляции РТР и всплеск генерации супероксид-аниона, индуцированных пермеабиллизацией митохондриальных мембран, пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля. Результаты диссертационной работы убедительно показывают, что НАД(Н) являются ингибиторами открывания РТР в терминально дифференцированных клетках. Данные пиридиновые

нуклеотиды аллостерически действуют на регуляторный сайт РТР, расположенный во внешних отделах митохондрий. Показано, что регуляторным сайтом не является короткий Ca^{2+} -связывающий митохондриальный переносчик (SCaMC). Транслоказа адениновых нуклеотидов (АНТ) может участвовать в модуляции защитного действия НАД(Н). Цитозольные НАД(Н) усиливают АНТ-опосредованный выход АТР из митохондрий. Также рассмотрена роль потенциал-зависимого анионного канала VDAC в НАД(Н)-зависимой регуляции РТР. Важными являются результаты, демонстрирующие, что пермеабилзация митохондриальных мембран (по любому механизму), доступность цитозольного НАД(Ф)Н и снижение концентрации НАД(Ф)Н-регенерирующих субстратов способствуют высокой продукции супероксид-аниона.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым ВАК России к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности «Биохимия».

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации.

Данные, представленные в настоящей работе, получены автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование, выполнение экспериментов, обработку полученных данных, а также оформление и публикацию результатов.

Степень достоверности проведённых исследований. Научные положения и выводы диссертации Харечкиной Е.С. обоснованы, достоверны и логически вытекают из полученных экспериментальных данных.

Научная новизна. В диссертационной работе Харечкиной Е.С. впервые показано, что НАДН и, в меньшей степени, НАД дозозависимо подавляют открывание РТР в терминально дифференцированных клетках, действуя через аллостерический нуклеотид-связывающий сайт, локализованный во внешних отделах митохондрий (ОММ или внешняя сторона IMM). Обнаружено, что АНТ модулирует защитное действие НАД(Н). НАД(Н) усиливает АНТ-опосредованный выход АТР из митохондрий. Впервые показано участие НАД(Ф)Н матрикса и цитозоля в генерации всплеск супероксидного аниона при пермеабилзации митохондриальных мембран. Обнаружено, что главный вклад в данный процесс делают НАДФН-зависимые системы матрикса. Впервые описаны условия, способствующие появлению всплеск: пермеабилзация митохондриальных мембран, наличие цитозольного НАД(Ф)Н и снижение концентрации НАД(Ф)Н-регенерирующих субстратов в матриксе.

Научно-практическая ценность. Полученные данные дают представление о ранее не известных механизмах участия пиридиновых нуклеотидов в регуляции жизнеспособности клеток при физиологических и патологических состояниях. Показано, что, с одной стороны, НАД(Н), наряду с адениновыми нуклеотидами, могут участвовать в цитопротекции путем ингибирования РТР. С другой стороны, в условиях, когда происходит пермеабилзация

митохондриальных мембран и падение уровня НАД(Ф)Н-регенерирующих субстратов в матриксе, НАД(Ф)⁺/НАД(Ф)Н могут поддерживать генерацию всплесков супероксид-аниона. Результаты исследования могут служить основой для дальнейшей идентификации нуклеотид-связывающего регулятора РТР во внешних отделах митохондрий. Идентифицируемый белок может являться перспективной мишенью для фармакологического воздействия с целью коррекции патологий, в основе которых лежит запуск клеточной гибели в результате открывания поры (например, ишемия/реперфузия) или ее ингибирование (злокачественные образования). Кроме того, установленное участие НАД(Ф)(Н) в генерации всплесков супероксид-аниона поможет выяснению процесса передачи сигналов между соседними митохондриями, результатом которого является вторичная продукция АФК и индукция РТР.

Ценность научных работ соискателя, соответствие содержания диссертации специальности, полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Содержание диссертационной работы и опубликованные по ней материалы: 4 статьи в рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК РФ, 1 монография и 7 тезисов российских и международных конференций, соответствуют специальности 03.01.04 – «Биохимия». Результаты диссертационного исследования полностью изложены в опубликованных работах.

Диссертация Харечкиной Екатерины Сергеевны «Регуляция неспецифической Ca²⁺-зависимой митохондриальной поры (РТР) и генерации супероксид-аниона пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия». Заключение принято на заседании секций «Биоэнергетика» и «Биомедицина» Ученого совета ИТЭБ РАН. Присутствовало на заседании 31 человек. Результаты голосования: «за» – 31, «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 17 от 18 октября 2019 года.

Председатель секции «Биомедицина»
зав. лаборатории энергетики
биологических систем ИТЭБ РАН
д.м.н., проф.



Подпись: *Маевский Е.И.*
Вихлянцев И.М.
Удостоверяю-Зав. ОДОУ
О.В. СЕНОВА

Председатель секции «Биоэнергетика»
зав. лаборатории структуры и функции
мышечных белков ИТЭБ РАН
д.б.н.

Маевский Е.И.
Е.И. Маевский

Вихлянцев И.М.
И.М. Вихлянцев

ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА № 17

совместного заседания секций Ученого совета «Биоэнергетика» и «Биомедицина»
Федерального государственного бюджетного учреждения Института теоретической и
экспериментальной биофизики Российской академии наук

от 18 октября 2019 г.

Председатель секции «Биомедицина» Ученого совета – д.м.н. Е.И.Маевский
Зам. председателя секции «Биоэнергетика» Ученого совета – д.б.н. И.М. Вихлянцев
Секретарь секции «Биоэнергетика» – к.б.н. И.В.Одинокова
Присутствовали 31 член секций Ученого совета

1. Слушали: аспиранта ИТЭБ РАН Харечкину Е.С. с докладом на тему «Регуляция неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР) и генерации супероксид аниона пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля».

Выступили с вопросами и дискуссией: д.б.н. Маевский Е.И., к.б.н. Амерханов З.Г., д.б.н. Косенко Е.С., к.х.н. Шляпникова Е.А., к.б.н. Дынник В.В., к.б.н. Теплова В.В.

Постановили: Работу аспиранта Харечкиной Е.С. по теме «Регуляция неспецифической Ca^{2+} -зависимой митохондриальной поры (РТР) и генерации супероксид аниона пиридиновыми нуклеотидами со стороны цитозоля» рекомендовать к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

2. Слушали: аспиранта ИТЭБ РАН Алилову Г.А. с докладом на тему «Обмен аммиака в мозге животных при развитии судорог различного генеза».

Выступили с вопросами и дискуссией: к.б.н. Круглов А.Г., к.б.н. Сирота Т.В., д.б.н. Маевский Е.И., к.б.н. Амерханов З.Г., д.б.н. Косенко Е.С., к.б.н. Дынник В.В., с.н.с. Сирота Н.П.

Постановили: Работу аспиранта ИТЭБ РАН Алиловой Г.А. по теме «Обмен аммиака в мозге животных при развитии судорог различного генеза» рекомендовать к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

3. Слушали: д.б.н. Маевского Е.И. и аспиранта ИТЭБ РАН первого года обучения Кожурина М.В.

Выступили с вопросами и дискуссией: д.б.н. Маевский Е.И., к.б.н. Сирота Т.В., д.б.н. Косенко Е.А.

Постановили: утвердить тему диссертационной работы аспиранта ИТЭБ РАН первого года обучения Кожурина М.В. «Влияние сукцинат-содержащих композиций на состояние сердечно-сосудистой системы при физических нагрузках».

Председатель секции «Биомедицина»
зав.лаб., д.м.н., проф.

Е.И.Маевский

зам. председателя секции «Биоэнергетика»
зав.лаб., д.б.н.

И.М. Вихлянцев

Секретарь секции
к.б.н.



Подпись: *И.В.Одинокова*
УДОСТОВЕРЯЮ-ЗАВ.ОДОУ
О.В. СЕНОВА

И.В. Одинокова