

Заключение диссертационного совета МГУ.03.02
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «13» декабря 2018 г. № 15

О присуждении Пономарчук Ольге Олеговне, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Механизмы ауторегуляции объема клеток эпителия в гипотонических условиях» по специальности 03.01.02. – биофизика принята к защите диссертационным советом 25.10.2018 г., протокол № 12.

Соискатель – Пономарчук Ольга Олеговна, 1991 года рождения, в 2017 году соискатель окончила аспирантуру биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова». В настоящее время соискатель не работает.

Диссертация выполнена на кафедре биофизики биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, а также в лаборатории научно-исследовательского центра при Монреальском университете (Канада).

Научные руководители: доктор биологических наук, профессор, Орлов Сергей Николаевич, заведующий лабораторией физико-химии биологических мембран на биологическом факультете МГУ им. М.В.Ломоносова; доктор биологических наук, профессор, Максимов Георгий Владимирович, профессор кафедры биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Официальные оппоненты:

Лопина Ольга Дмитриевна - доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры биохимии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова,

Архипенко Юрий Владимирович - доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории адаптационной

медицины на факультете фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова,
Зинченко Валерий Петрович - доктор биологических наук, профессор,
главный научный сотрудник лаборатории внутриклеточной сигнализации в ФИЦ
ПНЦБИ РАН, г. Пушкино

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 11 печатных работ, в том числе по теме диссертации 5 статей, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, , индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 03.01.02. – биофизика.

1. **О. О. Пономарчук**, Ф. Будро, А. А. Шиян и др. Метод одновременной регистрации изменений внутриклеточной концентрации кальция и объема клеток // Биофизика. — 2018. — Т. 63, № 3. — С. 489–495.
2. **Пономарчук О. О.**, Максимов Г. В., Орлов С. Н. Регуляция объема клеток эпителия в норме и при патологии // Бюллетень сибирской медицины. — 2017. — Т. 16, № 4. — С. 42–61.
3. **O. Ponomarchuk**, F. Boudreault, S. Orlov, R. Grygorczyk. Calcium is not required for triggering volume restoration in hypotonically challenged A549 epithelial cells // Pflugers Archiv European Journal of Physiology. — 2016. — Vol. 468, no. 11-12. — P. 2075–2085.
4. Platonova A., **Ponomarchuk O.**, Boudreault F. et al. Role of cytoskeleton network in anisotonic volume changes of intact and permeabilized A549 cells // Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes. — 2015. — Vol. 1848, no. 10. — P. 2337–2343.
5. A. Platonova, F. Boudreault, L. Kapilevich, G. Maksimov, **O. Ponomarchuk** et al. Temperature-induced inactivation of cytoplasmic biogel osmosensing properties is associated with suppression of regulatory volume decrease in A549 cells // Journal of Membrane Biology. — 2014. — Vol. 247, no. 7. — P. 571–579.

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их высоким уровнем компетентности в области биофизики и наличием публикаций в ведущих российских и международных журналах в этой сфере исследований.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих

существенное значение для биофизики, а именно:

идентифицированы ион-транспортирующие системы, вовлеченные в регуляцию объема, а также выявлен механизм действия предварительного температурного стресса (48-50°C) и пермебиализации плазматической мембраны на динамику изменения объема клетки. Исследована роль цитоскелета в изменениях объема интактных и пермеабилizированных клеток в гипотонической среде, а также проведен анализ семейства белков LRRC8, образующих VRAC, на наличие Ca^{2+} /кальмодулин-связывающих сайтов и Ca^{2+} /кальмодулин-зависимых сайтов фосфорилирования. С помощью разработанного автором нового метода, позволяющего одновременно контролировать изменения объема клетки и внутриклеточной концентрации ионов кальция выявлена определяющая роль транспорта ионов калия и хлора через плазматическую мембрану, а также белков цитоскелета в регуляции объема клеток. Предположено, что конформационные изменения цитоплазматических белков регулируют объем клетки за счет изменения уровня свободной и связанной воды. Исследован механизм Ca^{2+} -зависимой регуляции восстановления объема клеток, за счет активации анионных каналов. Впервые установлено, что при гипотоническом набухании клетки ионы кальция десорбируют с селективных участков анионного канала, что переводит его в активное состояние.

В работе Пономарчук О.О. изучен вклад ионных транспортеров плазматической мембраны и белков цитоплазмы в регуляцию объема клеток. Для этого автором был выбран метод реконструкции поверхности клетки DISUR, позволяющий регистрацию морфологических изменений клетки во времени и, как следствие, изменений объема. Изучение клеток с нарушенной плазматической мембраной указало на ключевую роль структур цитоплазмы, где одним из основных составляющих является цитоскелет, в регуляции объема клеток. Установлено, что восстановление объема в клетках A549 обусловлено работой K^+ -каналов и анионных каналов. Полученные результаты имеют теоретическую и практическую значимость.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Первоначальное набухание клеток эпителия в гипотонической среде сопровождается процессом регуляторного уменьшения объема (RVD), опосредованным активацией Ca^{2+} -чувствительных K^+ -каналов и анионных каналов

(VRAC).

2. Установлен Ca^{2+} -независимый механизм RVD и активации VRAC при гипотоническом набухании клеток.

3. Разрушение сети цитоскелета подавляет набухание цитоплазмы клеток в гипотонической среде, но не влияет на потоки ионов K^+ и RVD.

4. Предынкубация при $48\text{ }^\circ\text{C}$ снижает набухание биогеля цитоплазмы в гипотонических условиях и полностью подавляет активацию Ba^{2+} -чувствительных K^+ -каналов и связанный с ними RVD.

На заседании 13.12.2018 года диссертационный совет принял решение присудить Пономарчук Ольге Олеговне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации 03.01.02. – биофизика, участвовавших в заседании, из 21 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 17, «против» - 0, «недействительных бюллетеней» - 0.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., проф., член-корр. РАН

Рубин А.Б.

Ученый секретарь

диссертационного совета, д.б.н.

Страховская М.Г.

13.12.2018 г.

