

Диссертант: Фокин Артём Игоревич

Тема диссертационной работы: «Изучение молекулярных механизмов организации цитоскелета и регуляции клеточной подвижности протеинкиназой LOSK/SLK»

Специальность: 03.03.04. – клеточная биология, цитология, гистология

Отрасль науки: биологические науки

ПРОТОКОЛ № 19

Заседания Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций
Д 501.001.52 на базе МГУ имени М.В. Ломоносова от 15 декабря 2015 года

Председатель совета - д.б.н., профессор В.А. Голиченков

Учёный секретарь - к.б.н. Е.Н. Калистратова

ПОВЕСТКА ДНЯ: Защита диссертации **Фокина Артёма Игоревича.**

ПРИСУТСТВОВАЛИ

д.б.н. Голиченков Владимир Александрович
д.б.н. Онищенко Галина Евгеньевна
д.б.н. Калистратова Елена Николаевна
д.б.н. Александрова Мария Анатольевна
д.б.н. Белоусов Лев Владимирович
д.б.н. Бурлаков Александр Борисович
д.б.н. Воротеляк Екатерина Андреевна
д.б.н. Воробьев Иван Андреевич
д.б.н. Доронин Юрий Константинович
д.б.н. Исаев Николай Константинович
д.б.н. Ким Александр Иннокентьевич
д.б.н. Киреев Игорь Игоревич
д.м.н. Макарова Ольга Васильевна
д.б.н. Мелехова Ольга Петровна
д.б.н. Семенова Мария Львовна
д.б.н. Смирнова Елена Александровна
д.б.н. Ченцов Юрий Сергеевич

В состав счётной комиссии были избраны:

д.б.н. Доронин Ю.К. (предс.),
д.б.н. Семёнова М.Л.,
д.б.н. Исаев Н.К.

СЛУШАЛИ:

Защиту диссертации **Фокина Артёма Игоревича** на тему:
*«Изучение молекулярных механизмов организации
цитоскелета и регуляции клеточной подвижности
протеинкиназой LOSK/SLK»* на соискание учёной степени
кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 –
клеточная биология, цитология, гистология.

Научный руководитель:

д.б.н., проф. **Надеждина Елена Сергеевна**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 501.001.52 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.В.
ЛОМОНОСОВА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15. 12. 2015 № 19

О присуждении Фокину Артёму Игоревичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук. Диссертация «Изучение молекулярных механизмов организации цитоскелета и регуляции клеточной подвижности протеинкиназой LOSK/SLK» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 29.09.2015 года, протокол № 12 А, диссертационным советом Д 501.001.52 на базе Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12, Биологический факультет МГУ), утвержденного приказом Министерства образования и науки РФ № 391/нк от 29.07.2013 г.

Соискатель Фокин Артём Игоревич 1989 года рождения. В 2011 году окончил биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, в 2014 году – очную аспирантуру при факультете биоинженерии и биоинформатики Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

Диссертация выполнена в отделе функциональной биохимии биополимеров Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, где соискатель на данный момент работает в должности младшего научного сотрудника.

Научный руководитель – доктор биологических наук, Надеждина Елена Сергеевна, Институт белка РАН, отдел клеточной биологии, главный научный сотрудник, руководитель группы физиологии цитоскелета.

Официальные оппоненты:

Александрова Антонина Юрьевна, доктор биологических наук, ФГБУ «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ, лаборатория механизмов канцерогенеза, ведущий научный сотрудник,

Ширинский Владимир Павлович, доктор биологических наук, профессор, Институт экспериментальной кардиологии Российского Кардиологического Научно-производственного Комплекса Министерства здравоохранения РФ, лаборатория клеточной подвижности, заведующий лабораторией,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской Академии наук", Санкт-Петербург, в своем положительном заключении, подписанном Корниловой Еленой Сергеевной, доктором биологических наук, заведующей лабораторией динамики внутриклеточных мембран, указала, что «... диссертационная работа А.И.Фокина... является законченной в рамках поставленных задач научно-квалификационной работой, в которой на основании проведённого автором исследования получены новые данные в области клеточной биологии и достигнуто решение задачи, актуальной для развития соответствующей области знания. По актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Фокина А. И. соответствует п.9 «Положения...№ 842»..., а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются специалистами в области исследований цитоскелета и имеют публикации по исследованиям в данной области, а в

«Институте цитологии РАН» на высоком уровне проводятся исследования со сходным профилем в области клеточной биологии, цитологии и гистологии.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 17 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 2 статьи, из них одна – в ведущем российском, одна – в высокорейтинговом зарубежном журнале. Результаты диссертации были доложены на национальных и международных конференциях. Все результаты исследований получены лично соискателем, а его авторский вклад в публикациях является важнейшим и определяющим. Публикации, отражающие основное содержание диссертации:

1) Zhapparova ON, **Fokin AI**, Vorobyeva NE, Bryantseva SA, Nadezhdina ES. / Ste20-like Protein Kinase SLK (LOSK) Regulates Microtubule Organization by Targeting Dynactin to the Centrosome. // Mol Biol Cell. - 2013 - Vol. 24. № 20. – p. 3205-14.

2) **A. I. Fokin**, I. B. Brodsky, A. V. Burakov and E. S. Nadezhdina. / Interaction of Early Secretory Pathway and Golgi Membranes with Microtubules and Microtubule Motors. // Biochemistry (Moscow), - 2014 - Vol. 79. No. 9. - p. 879-893.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

- д. б. н., проф. Калебиной Татьяны Сергеевны, ведущего научного сотрудника кафедры молекулярной биологии биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова,

- к. б. н. Рыбалкиной Екатерины Юрьевны, старшего научного сотрудника лаборатории генетики опухолевых клеток ФГБУ «Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина» Минздрава России,

- к. б. н. Гиоевой Фатимы Константиновны, старшего научного сотрудника отдела клеточной биологии ФГБУН «Институт белка РАН».

Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция, согласно которой активность протеинкиназы LOSK определяет эффективность внутриклеточного транспорта путём создания упорядоченной системы транспортных путей клетки, системы её микротрубочек;

предложена оригинальная научная гипотеза о разделении функций динактина в заякоривании микротрубочек и осуществлении внутриклеточного транспорта путём регуляции протеинкиназой LOSK centrosомной локализации минорной субъединицы 1A белка p150^{Glued};

доказано наличие ранее неизвестных связей между активностью протеинкиназы LOSK и организации компонентов перичентриольного материала, и охарактеризованы молекулярные механизмы, лежащие в их основе;

введен новый способ оценки радиальности микротрубочек путём подсчёта числа их пересечений внутри отдельно взятой области в клетке, также применены оригинальные методы оценки эффективности внутриклеточного транспорта, как в кратковременных, так и в долговременных событиях.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана гипотеза о разделении нисходящих сигнальных путей от протеинкиназы LOSK, регулирующих организацию микротрубочек, поляризацию клеток и их подвижность путём фосфорилирования различных её субстратов: компонента динактина – белка p150Glued и малой ГТФазы RhoA. Это вносит существенный вклад в расширение представлений о молекулярных механизмах организации цитоскелета и регуляции клеточной локомоции.

Применительно к проблематике диссертации эффективно использован широкий комплекс классических и современных экспериментальных подходов, который включает в себя культивирование клеток, флуоресцентную микроскопию живого и фиксированного материала, создание и введение в клетки генетических конструкций, эксперименты in vitro с рекомбинантными, выделенными из бактерий, и иммунопреципитированными из эукариотических клеток белками; был проведён подробный статистический анализ всех ключевых данных исследования;

изложены экспериментальные доказательства влияния синтеза в клетках доминантно-негативной формы LOSK на организацию микротрубочкового и актинового цитоскелета неполяризованных и движущихся клеток, а также его непосредственного влияния на скорость и направленность миграции клеток;

раскрыты существенные проявления теории: выявлены новые, нерешённые проблемы касательно роли фосфорилирования динактина-1 по сайту узнавания LOSK, а именно: влияние мутаций R148W и R149Q, нарушающих его фосфорилирование на физиологию клеток и определения партнёров динактина-1, которые могут связываться с его варибельным участком, фосфорилированным LOSK по треонинам 145-147, способствуя, таким образом, организации микротрубочек в клетках;

изучены причинно-следственные связи между фосфорилированием киназой LOSK/SLK её основных субстратов – белков p150Glued и RhoA и процессами организации цитоскелета, внутриклеточного транспорта, поляризации клеток и их направленного движения;

проведена модернизация существующих методов фиксации и иммуноцитохимического окрашивания эукариотических клеток, а также подходов в создании генетических конструкций, которые могут обеспечить получение новых результатов, связанных с темой диссертации.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработана новая методика определения степени организованности микротрубочек в клетке, помогающая упростить её оценку; разработан и применён оригинальный метод определения активности динеинового транспорта в клетках, а также способ оценки внутриклеточного транспорта в долговременных событиях;

определены перспективы практического использования полученных результатов в дальнейшем изучении биохимических путей клетки; они могут быть применены при проведении фундаментальных и прикладных исследований, в том числе при поиске новых мишеней для фармакологических препаратов;

создана модель и система практических рекомендаций для изучения внутриклеточного транспорта и миграции клеток в целом;

представлены предложения по использованию полученных результатов при проведении дальнейших исследований внутриклеточной сигнализации, транспорта, организации цитоскелета и клеточной подвижности.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

воспроизводимость результатов: работа выполнена на высоком технологическом уровне с применением современных методов клеточной биологии и биохимии на достаточном по объёму материале в соответствии с мощностями используемых критериев оценки достоверности данных; экспериментальные результаты получены на сертифицированном оборудовании, откалиброванном в соответствие со стандартами; таким образом, достоверность полученных диссертантом данных не вызывает сомнений;

теория построена на проверяемых данных автора и согласуется с известными опубликованными экспериментальными данными в соответствующей отрасли научного знания;

идея базируется на анализе экспериментальных работ отечественных и зарубежных исследователей, изучающих свойства протеинкиназы LOSK и регулируемые ею процессы организации цитоскелета, внутриклеточного транспорта, поляризации клеток и клеточной подвижности;

использованы оригинальные данные автора, в обсуждении диссертации сопоставленные с данными, полученными ранее другими авторами по исследуемой тематике;

установлено качественное и количественное соответствие результатов работы с данными, представленными ранее, в которых изучалась роль малых ГТФаз и динеин-динактинового комплекса в организации цитоскелета, внутриклеточного транспорта, поляризации клеток и клеточной локомоции;

использованы современные методы сбора и обработки исходной информации, микроскопы, цифровые камеры и компьютерные программы с лицензионным программным обеспечением.

Личный вклад соискателя состоит в его участии на всех этапах научного процесса: глубоком анализе научной литературы, относящейся к теме его исследования, непосредственном участии соискателя в постановке цели и задач исследования, планировании и разработке научных экспериментов, получении первичных данных и их интерпретации, личном участии в апробации результатов исследования, подготовке публикаций по теме выполненной работы.

На заседании 15 декабря 2015 года диссертационный совет принял решение присудить Фокину Артёму Игоревичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них - 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации - 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за - 16, против - 0, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель диссертационного совета
д.б.н., профессор

д

В.А.Голиченков

Ученый секретарь диссертационного совета
к.б.н.

К

7

Е.Н.Калистратова

Декан биологического факультета МГУ,
д.б.н., академик РАН



М.П.Кирпичников

Дата оформления заключения 17.12. 2015

1-2