Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0413U003654

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 12-06-2013

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Ржепецький Юрій Анатолійович
2. Rzhepetskyy Yuriy Anatolijovych

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.11

Назва наукової спеціальності: Цитологія, гістологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 15-05-2013

Спеціальність за освітою: 8.04010209

Місце роботи здобувача: Інститут біології клітини НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: 79005, м.Львів, вул.Драгоманова 14/16

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 35.246.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: Драгоманова 14/16, м. Львів, Львівська обл., 79005, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: 79005, м.Львів, вул.Драгоманова 14/16

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.19.19

Тема дисертації:

1. Фосфорилювання адаптерного протеїну ruk/CIN85 в регуляції біологічних відповідей клітин

2. Phosphorylation of adaptor protein Ruk/CIN85 in the control of biological cell responses

Реферат/анотація:

1. Об'єкт дослідження: Молекулярні механізми функціонування адаптерних/риштувальних протеїнів. Мета роботи: дослідити можливість фосфорилювання адаптерного протеїну Ruk/CIN85 in cellulo та зміни в рівні посттрансляційної модифікації при дії поліпептидних факторів росту, ідентифікувати Ser/Thr-специфічні протеїнкінази, що утворюють комплекси з адаптерним протеїном, з'ясувати механізми та роль виявленої міжмолекулярної взаємодії. Методи дослідження: методи біохімії, молекулярної та клітинної біології. Проведено комплекс експериментальних робіт, які безпосередньо доводять явище посттрансляційної модифікації адаптерного протеїну Ruk/CIN85 in cellulo шляхом фосфорилювання та зміни у рівні фосфорилювання в процесі реалізації біологічних відповідей клітин. Показано, що Ruk/CIN85 утворює комплекси з протеїнкіназами, здатними модифікувати адаптерний протеїн. Вперше встановлено, що PKD є зв'язувальним партнером Ruk/CIN85, досліджено механізми міжмолекулярної взаємодії та ідентифіковано локалізацію сайтів фосфорилювання. Результати проведених досліджень свідчать про функціональну роль взаємодії Ruk/CIN85-PKD у регулюванні процесів міграції й інвазії пухлинних клітин. З використанням

метаболічного мічення Т-лімфомних клітин лінії Jurkat 32P-фосфатом з наступною імунопреципітацією вперше показано, що адаптерний протеїн Ruk/CIN85 зазнає фосфорилюванню in cellulo. Вперше встановлено, що повнорозмірна (Rukl) та середня (Rukm) ізоформи Ruk утворюють комплекси з протеїнкіназами в клітинах HEK293, здатними диференційно фосфорилювати адаптерний протеїн, причому рівень фосфорилювання різноскеровано змінюється при стимуляції клітин ембріональною сироваткою корови та інсуліном. На моделі клітин феохромоцитоми щура лінії PC12 продемонстровано особливості фосфорилювання повнорозмірної і середньої ізоформ Ruk/CIN85 по залишках тирозину, серину і треоніну при індукції диференціювання та проліферації за допомогою NGF та EGF, відповідно. Вперше Ser/Thr-срецифічна PKD ідентифікована як зв'язувальний партнер Ruk/CIN85, з'ясовано механізми міжмолекулярної взаємодії та ідентифіковано сайти адаптерного протеїну, що зазнають модифікації за участі PKD2. Встановлено пригнічення взаємодії Ruk/CIN85 з PKD2 при стимуляції В-клітинного рецептора в В-лімфоцитах, ізольованих з мигдаликів людини, та клітинах лімфоми Беркета Ramos. За допомогою конфокальної мікроскопії показано співлокалізацію Ruk/CIN85 та PKD2 в ділянках ламеліподій та мембранних складок в аденокарциномних клітинах грудної залози людини лінії MCF-7, стабільно трансфікованих Rukl/CIN85-GFP. Продемонстровано посилення міграційного потенціалу клітин MCF-7 зі стабільною надекспресією Rukl/CIN85-GFP та утворення комплексу Ruk/CIN85 з актин-зв'язувальним протеїном кортактином у цих клітинах. Сфери використання: клітинна біологія, молекулярна біологія.

2. Object of the research: molecular mechanisms of adaptor/scaffold proteins functioning . The aim of the work: study the possibility of post-translational modification of adaptor protein Ruk/CIN85 through phosphorylation using models of different tumour cells treated with various regulatory factors as well as to search for protein kinases able to interact with Ruk/CIN85 and modify it. Methods: approaches of cellular and molecular biology, biochemical. It was demonstrated that Ruk/CIN85 is phosphorylated in cellulo and changes in the level of its modification were revealed in cells in the process of biological responses realization. In particular, increase of full-length Ruk/CIN85 isoform phosphorylation has been shown in human embryonic kidney cells HEK293 stimulated by serum and insulin. On the contrary, under the same conditions phosphorylation of Rukm isoform without first SH3AB domains is decreased. In addition, differential changes in the level of Ruk/CIN85 phosphorylation on Tyr, Ser and Thr residues in rat pheochromocytoma PC12 cells induced to proliferation and differentiation with EGF and NGF, respectively, were revealed. It was shown for the first time that Ser/Thr-specific PKD is a binding partner of Ruk/CIN85 and molecular mechanisms of intermolecular interaction as well as potential sites of its phosphorylation were identified. It has been also demonstrated the suppression of Ruk/CIN85-PKD2 interaction in B lymphocytes isolated from human tonsils and Burkitt's lymphoma Ramos cells in the process of BCR stimulation. Importantly, colocalization of Ruk/CIN85 and PKD2 was revealed in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells, which stably overexpress GFP-fused full length Ruk form, in lamellipodia and membrane ruffles, structures recponsible for cell migration. It was also established that these cells are characterized by increased motility in comparison to mock-transfected cells. The interaction of Ruk/CIN85 with cortactin, being also the binding partner of PKD and the component of machinery involved in the control of cell motility and invasion, was identified. Together, the data obtained can suggest the functional role of of Ruk/CIN85-PKD interaction in regulation of cell migration and invasion. Area of use: cellular biology, molecular biology.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дробот Людмила Борисівна

2. Drobot Lyudmyla Borysivna

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.11

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Філоненко Валерій Вікторович

2. Філоненко Валерій Вікторович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.03, 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Воробець Зиновій Дмитрович

2. Воробець Зиновій Дмитрович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради Сибірний Андрій Андрійович

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Сибірний Андрій Андрійович

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності Юрченко Т.А.