Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0416U005262

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 29-09-2016

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Базалій Андрій Вікторович

2. Bazalii Andrii Viktorovich

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: ні

Шифр наукової спеціальності: 03.00.04

Назва наукової спеціальності: Біохімія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 26-09-2016

Спеціальність за освітою: 8.04010205

Місце роботи здобувача: Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: 01601 Київ, вул. Леонтовича 9

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 26.240.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О.В.Паладіна Національної Академії Наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, 9, м. Київ, Київ, 01030, 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 біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: 01601 Київ, вул. Леонтовича 9

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 31.27.31

Тема дисертації:

1. Роль адаптерного протеїну Ruk/CIN85 у рецептор-залежних механізмах активації NADPH-оксидази і внутрішньоклітинного сигналювання у пухлинних клітинах.

2. The role of adapter protein Ruk/CIN85 in receptor dependent mechanisms of NADPH oxidase activation and intracellular signaling in tumor cells.

Реферат/анотація:

1. Об'єкт: молекулярні механізми контролю функціональної активності NADPH-оксидазного комплексу і редокс-залежного сигналювання. Мета: з'ясувати потенційну роль адаптерного протеїну Ruk/CIN85 у регулюванні функціональної активності NADPH-оксидаз та внутрішньоклітинного сигналювання в пухлинних клітинах. Методи: трансфекція клітин, визначення АФК хемілюмінесцентним методом з люмінолом, аналіз міграції з використанням модифікованої камери Бойдена, електрофорез протеїнів у ПААГ, Вестерн-блот аналіз, імунопреципітація, GST in vitro pull down аналіз, конфокальна прижиттєва мікроскопія. Продемонстровано існування регуляторного взаємозв'язку між рівнем експресії Ruk/CIN85 у пухлинних клітинах та інтенсивністю продукування АФК, залежного від функціонування NADPH-оксидаз. Отримано генетичні конструкції, що кодують внутрішньоклітинний біосенсор H2O2, HyPer та злитий протеїн

Ruk/CIN85-HyPer. З використанням прижиттєвої флуоресцентної мікроскопії продемонстровано співлокалізацію генерування H2O2 та адаптерного протеїну Ruk/CIN85 у «dot»-подібних везикулярних структурах різних розмірів у тимчасово трансфікованих клітинах MCF-7. Показано, що попередня обробка клітин MCF-7 субклону G10 інгібітором збирання NADPH-оксидазного комплексу апоциніном і пасткою для АФК N-ацетилцистеїном призводить до реверсії тривалої активації кінази Akt на тимчасову з одночасним посиленням автофосфорилювання рецептора EGF та пригніченням клітинної міграції. Встановлено, що підвищене продукування АФК в клітинах MCF-7 із надекспресією адаптерного протеїну Ruk/CIN85 корелює з диференційними системними змінами у рівні експресії генів NOX.

2. Object: the molecular mechanisms of the NADPH-oxidase complex functional activity control and redox-dependent signaling. Aim: to determine the potential role Ruk/CIN85 adapter protein in the regulation of the functional activity of NADPH-oxidase and intracellular signaling in tumor cells. Methods: cell transfection, chemiluminescent assay, migration assay using modified Boyden chambers, PAGE protein electrophoresis, Western blot analysis, immunoprecipitation, GST in vitro pull down assay, confocal microscopy. The results of the study demonstrated the existence of the regulatory relationship between the level of Ruk/CIN85 expression in MCF-7 cells and the intensity of ROS production dependent on NADPH oxidase functional activity. Genetic constructs, which encode the intracellular H2O2 biosensor, Hyper, and the fusion protein Ruk/CIN85-HyPer were obtained. Using intravital fluorescence microscopy, colocalization of H2O2 production and adaptor protein Ruk/CIN85 was demonstrated in «dot»-like vesicular structures of different sizes in transiently transfected MCF-7 cells. According to our data, pretreatment of G10 MCF-7 cells with inhibitor of NADPH-oxidase complex assembly apocynin and trap for ROS N-acetylcysteine led to the reversion from sustained Akt kinase activation to transient with simultaneous increase of EGF receptor autophosphorylation and inhibition of cell migration. The data obtained can suggest that ROS produced by NADPH oxidases are signaling components, upstream to Akt kinase, that mediate the increased migratory potential of Ruk/CIN85-overexpressing MCF-7 cells. The system multidirectional changes in mRNA levels for NOX1, NOX2, NOX5, DUOX2 and p22Phox were revealed in Ruk/CIN85 overexpressing cells in comparison to control cells. Knocking down of Ruk/CIN85 using technology of RNA-interference resulted in the reversion of these changes. Further studies are necessary to elucidate, by which molecular mechanisms Ruk/CIN85 could affect transcriptional regulation of NOXs genes. Using GST in vitro pull-down assay, we determined that SH3A domain of adaptor protein Ruk/CIN85 precipitated full-length form of adaptor protein Tks4 (Mr 120 kDa) from lysates of human breast (MCF-7, MDA-MB-231), melanoma (MM-4), colon (HT-29, DLD-1) tumor cells as well as from lysates of mouse Lewis lung carcinoma cells (LLC) and mouse fibroblasts (NIH 3T3). It has been also revealed that all Ruk/CIN85 SH3 domains (A, B and C) with high efficiency precipitated the additional forms of Tks4 with Mr 75, 90 and 160 kDa from lysates of human colon carcinoma cells and mouse fibroblasts. The molecular nature of new multiple forms of Tks4 has not been determined to date. The data obtained suggest that interaction between Ruk/CIN85 SH3 domains with Tks4 endogenous forms is determined by cellular context while a level of this interaction can be regulated in the course of physiological cellular responses. Increased interaction between the endogenous forms of both adaptor proteins in MCF-7 cells overexpressing Ruk/CIN85 was demonstrated in the course of EGF treatment.

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 Liudmyla Borysovna

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

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Матишевська Ольга Павлівна

2. Матишевська Ольга Павлівна

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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Філоненко Валерій Вікторович

2. Філоненко Валерій Вікторович

Кваліфікація: д.б.н., 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

Рецензенти

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради Костерін Сергій Олексійович

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Костерін Сергій Олексійович

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

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