Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0414U000999

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 29-04-2014

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Черкас Володимир Петрович
2. Cherkas Volodymyr

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.02

Назва наукової спеціальності: Біофізика

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 22-04-2014

Спеціальність за освітою: 8.070101

Місце роботи здобувача: Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417093

Місцезнаходження: 01024, м. Київ, вул. Богомольця, 4

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 26.198.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут фізіології ім. Богомольця Національна академія наук України

Код за ЄДРПОУ: 00000000

Місцезнаходження: вул. Богомольця, 4, м. Київ, Київ, 01024, 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 фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417093

Місцезнаходження: 01024, м. Київ, вул. Богомольця, 4

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.17.23

Тема дисертації:

1. Клітинна сигналізація гіпокальцину у нейронах гіпокампа.

2. Hippocalcin cellular signaling in hippocampal neurons

Реферат/анотація:

1. Дисертація присвячена визначенню біофізичних властивостей гіпокальцину у дендритах первинної культури нейронів гіпокампа. В умовах досліду показано наявність та просторово-часову структуру транслокації гіпокальцину у нормально функціонуючих нейронах культури гіпокампа. Встановлено, що гіпокальцин може переміщуватись до одних і тих же місць в дендритах і аксонах нейронів гіпокампа при послідовній генерації нейронами пакетів потенціалів дії. Збільшення числа ПД у пакетах призводить до лінійного збільшення амплітуд відповідних транслокацій гіпокальцину без змін у їх просторовому розподілі. У локальних просторово-обмежених сегментах гіпокальцин інтегрує активність нейрона, лінійно перетворюючи її в кількість білка, транслокованого у плазматичну мембрану нейронів. Встановлено, що транслокації гіпокальцину є результатом його вбудовування у плазматичну мембрану дендритів нейронів. Показано, що внутрішній шар дендритної мембрани нейронів гіпокампа має різну спорідненость до гіпокальцину, утворюючи постійні у часі домени для специфічного вбудовування цього білка під час

локальних та глобальних збільшень [Ca2+]i. Побудовано дифузійну модель транслокації гіпокальцину. Постулюється важлива роль гіпокальцину у внутрішньоклітинній сигналізації в ролі нейронного кальцієвого буфера та сенсора, що здатний до локальної інтеграції сигналів. Ключові слова:Ca2+-сигналізація, нейронні кальцієві сенсори, гіпокальцин, флуоресцентні білки, кальцимерія, FRET.

2. Hippocalcin is a Ca2+-binding protein, which belongs to the family of neuronal Ca2+ sensors. It is highly expressed in the hippocampus but physiological role and molecular mechanisms underlying its action in this part of the brain have not been investigated in detail. To study whether intrinsic neuronal activity could result in hippocalcin-mediated signal transduction we examined spontaneous and action potential (AP)-dependent changes in fluorescence of Yellow Fluorescent Protein-tagged Hippocalcin (HPCA-YFP) in transiently transfected hippocampal cultured neurons. In 6-12 DIV neurons HPCA-YFP spontaneously translocates longitudinally both in dendrites and axons to certain sites of 1-5 ?m in length from neighboring diffusionally confined segments of neuronal processes. The translocation was expressed as a fast (1-5 sec) reversible increase in HPCA-YFP fluorescence in these sites coincided with a decrease in adjacent sites indicating genuine protein translocation. Both synchronous in remotely located sites, and asynchronous translocations of HPCA-YFP were observed in the same neuron. Physiologically relevant neuronal stimulation with short AP bursts also resulted in fast (1-3 sec), reversible, and [Ca2+]i-dependent translocation of HPCA-YFP to several sites synchronizing hippocalcin signalling in different segments of neuronal processes. The amount of translocated protein increased linearly with the number of action potentials in a burst, indicating that hippocalcin can serve as a local integrator of short-term neuronal activity.Hippocampal neurons within neuronal networks reveal network-driven activity leading to a complex spatio-temporal patterns of [Ca2+]i changes. We showed that these changes have to result in continuous hippocalcin transitions between Ca2+ free and bound states and, as a result, in its different partitioning between cytosol and membranes. To investigate this hypothesis we have examined spontaneous and stimulus-dependent translocation of EYFP-tagged hippocalcin to subcellular targets in transfected hippocampal neurons growing in low-density cultures. We have demonstrated that hippocalcin is a very fast and sensitive Ca2+ sensor, which is able to detect a few action potentials and may participate in local integration of neuronal activity. FRET approach was used to measure spatio-temporal pattern of hippocalcin insertion to the plasma membrane during translocation. We found some specific sites on the dendritic plasma membrane, sized from diffractionally limited to several microns, where local hippocalcin insertion to the plasma membrane was higher than in neighbouring sites. We checked whether translocation at these specific sites are associated with regions of higher intracellular free calcium concentration ([Ca2+]i). Creating spatially uniform [Ca2+]i transients in dendritic segments, we showed that hippocalcin translocation was significantly different in neighbouring sites having the same (in terms of kinetics and amplitude) patterns of [Ca2+]i changes. Producing long-lasting elevations of [Ca2+]i by activation of different Ca2+ mobilizing mechanisms, we also demonstrated that hippocalcin translocation was observed in the same set of sites independently of Ca2+ sources. These results indicate that [Ca2+]i is not the only determinant of hippocalcin translocation and that local differences in the plasma membrane affinity for hippocalcin are an important biophysical mechanism of hippocalcin signalling. Furthermore we have also developed original approaches for quantitative separate and simultaneous measurement of hippocalcin concentration in cytosolic and membrane cellular fractions of single living hippocampal neurons. Based on these approaches and simulation of Ca2+ and hippocalcin diffusion in the dendrites and spines of hippocampal neurons we have shown that hippocalcin concentration in dendritic membranes can undergo substantial local increase during intrinsic patterns of neuronal activity. We conclude that hippocalcin plays a very significant role in intracellular signaling as calcium buffer and sensor that is capable of local signal integration. Keywords:Ca2+-signaling, NeuronalCalciumSensors, hippocalcin, fluorescent proteins, [Ca2+]imeasurement, FRET.

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. Білан Павло Володимирович

2. Bilan Pavlo V.

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.02

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. Корогод Сергій Михайлович

2. Корогод Сергій Михайлович

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.02

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 Кришталь Олег Олександрович

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Кришталь Олег Олександрович

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

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