Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0512U000968

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 29-12-2012

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Телегєєв Геннадій Дмитрович

2. Telegeev Gennady Dmitrievich

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.03

Назва наукової спеціальності: Молекулярна біологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 25-12-2012

Спеціальність за освітою: 7.04010202

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: 03680 Київ, вул. Заболотного, 150

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 26.237.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Акад. Заболотного, 150, м. Київ, Київська обл., 03143, 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 молекулярної біології і генетики НАН України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: 03680 Київ, вул. Заболотного, 150

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.15.23

Тема дисертації:

1. Мієлопроліферативні захворювання: молекулярний патогенез та діагностіка

2. Myeloproliferative diseases: molecular pathogenesis and diagnostics

Реферат/анотація:

1. Роботу присвячено вивченню молекулярного патогенезу хронічної мієлоїдної лейкемії (ХМЛ) та розробці діагностичних і моніторингових методів мієлопроліферативних неоплазм. Запропоновано новий підхід до виявлення та диференційної діагностики Ph-позитивних лейкемій, який дозволяє виявляти як класичні, так і можливі неканонічні типи перебудов в bcr ділянці химерного гена bcr-abl. Запропоновано тест - системи для виявлення bcr-abl перебудови, мутації в Abl-кіназному домені та мутації V617F при МПЗ. За допомогою зворотно - транкриптазної полімеразної ланцюгової реакції показано , що у деяких хворих на ГЛЛ та ХМЛ з p210 bcr-abl мРНК на гострій стадії захворювання відбувається втрата різних за протяжністю ділянок DH домену. Описано 7 нових варіантів химерної bcr-abl мРНК. Проаналізовано наслідки виявлених змін на характер функціонування білка. Зокрема, на актиновий цитоскелет полімофноядерних лейкоцитів, де спостерігається різне клітинне розташування: дифузійне, кортикальне та "dot-like" розташування (у хворого з бластною кризою). З метою дослідження наявності та рівня експресії нормального білка Bcr нами було

проекспресовано, очищено і використано для отримання поліклональних антитіл рекомбінантні DH та PH домени Bcr. Результати Вестерн-блот аналізу з використанням лізатів клітин хворих на ХМЛ свідчать про наявність зворотного негативного зв'язку між експресією білків Bcr та Bcr-Abl. Отримані антитіла дають змогу детектувати нормальний білок Bcr і дозволяють розробити комплексний підхід для детекції bcr-abl - перебудови. Клоновано ділянки гена bcr, що відповідають DH і PH доменам, а також тандему DHPH білка Bcr та отримано рекомбінантні білки DH, PH і DHPH. Вперше проведено дослідження GEF - активності DH домену Bcr окремо і разом з PH доменом методом "pull down" - аналізу. Показано, що в нього відсутня GEF - активність щодо Rho-ГТФаз підкласів RhoA, Cdc42 і Rac1 in vitro і in vivo. Визначено ліпіди, що зв'язуються з PH доменом Bcr з високою афінністю. Методами "pull down", двовимірного електрофорезу і мас-спектрометрії вперше показано взаємодію PH домену Bcr з білками, підтверджено зв'язування з білками SMC1, тубулін, зизимін1, PLC. Показано вплив PH домену на субклітинну локалізацію білка Bcr-Abl. Ключові слова: Bcr-Abl, DH домен, PH домен, хронічна мієлоїдна лейкемія, ХМЛ, гостра лімфобластна лейкемія, ГЛЛ, ген bcr-abl, jak 2 ген, діагностика.

2. The work is devoted to the study of the molecular pathogenesis of the chronic myelogenous leukemia (CML) so as to the development of diagnostics and monitoring methods for chronic myeloplasms. Nucleotide sequences of the DH domain of the hybrid bcr-abl gene of patients with CML and ALL is analysed at the different stage of the illness using the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The loss of various parts of different length of the DH domain of the p210 bcr-abl mRNA was found to occur for some patients suffering from ALL and CML so as point mutations at the acceleration illness stage. The new approach to the detection and differential diagnostics of the Ph - positive leukemias is proposed to reveal the classic translocation as well as the uncanonical translocation in the bcr region of the hybrid bcr-abl gene. In addition to this test systems for detection and monitoring of bcr-abl reorganisation, mutation V617F at the gene jak 2 was developped GEF activity of Bcr DH domain towards RhoA, Rac1 and Cdc42 hasn't been detected in both in vitro and in vivo experiments. A. Experimental data suggest that PH domain binds to phosphatidylinositol monophosphates PI(3)P, PI(4)P and PI(5)P with high affinity. There is uneven lipid content in intracellular cell membranes. Therefore, PH domain binding to phosphainositols might effect p210 Bcr-Abl protein localization. This was confirmed by comparison of p190 and p210 Bcr-Abl cell localization in immunofluorescent microscopy assay. Protein-protein interactions of PH domain were studied by pull-down assay. K562 cells were grown in [35S]-methionine medium therefore all K562 proteins were radioactively labeled and could be distinguished from bacterial protein contamination after Ni-NTA purification. After the comparison of the two gels spots corresponding to K562 proteins were excised and trypsinized. Peptide spectra were collected by MALDI TOF mass-spectrometry and corresponding proteins were identified by ProFound web resource. We identified 23 proteins that potentially bind to Bcr PH domain. Each of the detected proteins should be than verified by protein-protein binding assay in vitro or in vivo. For the further experiments we've chosen SMC1 (structure maintenance of chromosomes), tubulin, zizimin1 and PLC proteins and confirmed binding of them to PH domain by pull-down and the immunoprecipitation assays. Taken together, the study reveals important functions of Bcr DH and PH domains that could affect Bcr-Abl signal pathways. Keywords: chronic myelogenous leukemia, CML, acute lymphoblastic leukemia, ALL, bcr-abl gene, DH domain, jak 2 , PH domain, diagnostics

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)

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дробот Людмила Борисівна
2. Дробот Людмила Борисівна

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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Скляренко Лілія Михайлівна
2. Скляренко Лілія Михайлівна

Кваліфікація: д.мед.н., 14.01.07

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 — Єльська Ганна Валентинівна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні — Єльська Ганна Валентинівна

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

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