

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0416U001650

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 30-03-2016

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Мордерер Дмитро Євгенович
2. Morderer Dmytro Yevhenovych

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат 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: 22-03-2016

Спеціальність за освітою: 8.04010205

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): Д26.237.01

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

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: 34.15.43

Тема дисертації:

1. Ідентифікація Ca^{2+} -залежного фосфорилування скафолдного білка ITSN1 та його взаємодії з цитоскелетним білком STOP у нейронах
2. Identification of Ca^{2+} -dependent phosphorylation of scaffold protein ITSN1 and its interaction with cytoskeletal protein STOP in neurons

Реферат:

1. Дисертація присвячена пошуку нових взаємодій скафолдного білка ITSN1 з нейрональними білками, дослідженню його ролі у розвитку нейронів, а також вивченню Ca^{2+} -залежного фосфорилування ITSN1. В ході роботи було ідентифіковано новий партнер ITSN1 - цитоскелетний білок STOP. Показано, що STOP формує комплекс з SH3A-доменом ITSN1. Продемонстровано, що пригнічення експресії ITSN1 не призводить до зменшення кількості дендритів первинних нейронів гіпокампу щурів, але призводить до скорочення довжини дендритів первинних нейронів гіпокампу щурів. За допомогою біоінформатичних методів передбачено 17 потенційних сайтів Ca^{2+} -залежного фосфорилування ITSN1. Вперше продемонстровано фосфорилування ITSN1 у Ca^{2+} -кальмодулін-залежний спосіб *in vitro*. З використанням тандемної мас-спектрометрії, поєднаної з рідинною хроматографією, ідентифіковано 5 сайтів Ca^{2+} /кальмодулін-залежного фосфорилування ITSN1.

2. ITSN1 is a scaffold protein involved in formation of multimolecular complexes required for clathrin-mediated endocytosis, signal propagation through several intracellular signaling cascades and nucleation of actin filaments. Misregulation of ITSN1 expression is linked to several neurodevelopmental and neurodegenerative diseases such as Down syndrome, Alzheimer's disease and Huntington disease. Increasing evidence indicates that ITSN1 can be a factor implicated in development of these disorders. In support of this, ITSN1 was found to be involved in important neuronal functions such as dendritic spine development and synaptic vesicle recycling. The aim of this work was to identify new interacting partners of ITSN1 in neurons, evaluate its effect on the formation of dendritic tree by cultivated hippocampal neurons, and to test possible ITSN1 phosphorylation by Ca²⁺-dependent enzymes. In order to find new ITSN1-interacting proteins in neurons in vitro binding assay of ITSN1 SH3 domains with mouse brain lysate was performed. For SH3A domain we identified a 120 kDa band that was subjected to MALDI-TOF mass spectrometry analysis. This band was identified as STOP (stable tubule-only peptide) - microtubule-associated protein that mediates their stabilization. Interaction between ITSN1 and STOP was confirmed by in vitro binding assay of ITSN1 SH3 domains with mouse brain lysate and subsequent Western blot analysis. Furthermore, complexes of ITSN1 and STOP were precipitated from mouse brain lysate with anti-STOP and anti-ITSN1 antibodies, indicating their interaction in vivo. Using laser scanning confocal microscopy we showed that ITSN1 and STOP partially colocalize in rat primary hippocampal neurons. These findings indicate formation of complexes between ITSN1 and STOP in neurons. Neuronal cytoskeleton plays an important role in formation and growth of neurites and establishment of synaptic contacts. Recently STOP was shown to be important for dendritic tree formation. Since ITSN1 interacts with STOP and participates in actin regulation, we studied its role in dendritic development. We show that downregulation of ITSN1 by shRNA does not affect number of dendrites but results in decrease of total dendritic length. Also, reduction of length of dendrites without affecting their number and complexity was revealed by Sholl analysis. Thus, ITSN1 is involved in growth of dendrites. Ca²⁺ ions play an important role in neuron functions by participation both in propagation of electric impulses and in signal transduction within neuronal cell. Therefore, many neuronal proteins are in some way regulated by Ca²⁺ signaling system. One of possible ways to mediate the Ca²⁺ regulation is phosphorylation of proteins by Ca²⁺-dependent kinases. Using several bioinformatic tools we predicted the existence of 17 potential phosphorylation sites for Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase 2 in ITSN1 molecule. Moreover, we demonstrate that particular fragments of ITSN1 can be phosphorylated in Ca²⁺/calmodulin-dependent manner. Using tandem mass spectrometry we identified 5 sites of Ca²⁺/calmodulin-dependent phosphorylation. Among them 2 were detected in CCR fragment, 1 - in EH-CCR interdomain linker, 1 - in SH3A-SH3B interdomain linker and 1 - in SH3B-SH3C interdomain linker.

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 ОПВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Риндич Алла Володимирівна
2. Rynditch Alla Volodymyrivna

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.22

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. Сиволоб Андрій Володимирович
2. Сиволоб Андрій Володимирович

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. Борисова Тетяна Олександрівна
2. Борисова Тетяна Олександрівна

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

