

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Колесникова Дмитрия Олеговича «Роль депо-управляемого входа кальция в регуляции кальциевых каналов TRPC1 и хлорных каналов CaCC», предоставленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология.

Целью диссертационной работы Колесникова Д.О. заявлено изучение роли локального входа  $\text{Ca}^{2+}$  через депо-управляемые каналы в регуляции активности эндогенных каналов TRPC1 и хлорных каналов CaCC в клетках HEK293.

Ионы внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  регулируют множество внутриклеточных процессов во всех живых организмах, являясь универсальными вторичными посредниками. Очевидно, что специфичность и направленность передачи кальциевого сигнала необходима для адекватного функционирования как отдельных клеток, так и всего организма в целом. В электронеозбудимых клетках основным путем поступления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму является депо-управляемый вход наружного  $\text{Ca}^{2+}$ . Согласно современным представлениям, ключевыми элементами депо-управляемого входа являются  $\text{Ca}^{2+}$ -сенсоры STIM, расположенные на мембране ретикулума, и депо-управляемые каналы Orai, расположенные на плазматической мембране. Опустошение депо приводит к миграции STIM к клеточной мембране, где они активируют каналы Orai, через которые ионы  $\text{Ca}^{2+}$  поступают в цитоплазму и депо перезаполняется. Однако, опустошение депо активирует и другие типы ионных каналов, физиологическая и молекулярная идентификация которых является актуальной задачей для исследований в области клеточного кальциевого гомеостаза. В представленной работе автор выделяет катионные каналы семейства TRPC, участвующие в формировании  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнала, и  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемые хлорные каналы (CaCC), и исследует функционирование этих каналов в комплексе с сенсорами STIM, каналами Orai и друг с другом в различных физиологических условиях на уровне одиночных каналов. Так как имеющиеся на настоящий момент сведения о депо-зависимом входе  $\text{Ca}^{2+}$  ограничены, выбор направления исследований представляется интересной и актуальной целью для диссертационной работы.

Изучая функционирование клеточных систем на уровне отдельных каналов, автору впервые удалось продемонстрировать механизмы регуляции каналов TRPC белками Orai и сенсорами STIM2. В частности, было показано, что белки Orai не участвуют в формировании поры эндогенных каналов TRPC1, но необходимы для их активации при опустошении депо, а сенсор STIM2 напрямую регулирует каналы TRPC1. Впервые показано, что вход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через эндогенные каналы TRPC1 вызывает активацию эндогенных каналов CaCC, которые автор идентифицирует как ANO6. На уровне физиологических экспериментов на клетках HEK293 показано, что эндогенные каналы TRPC1 образуют с эндогенными каналами CaCC единый функциональный микродомен, находясь на расстоянии не более 20 нм. Автором предполагается, что такая компарментализация приводит к высокой локальной концентрации цитоплазматических ионов кальция, необходимой для активации каналов CaCC.

С научно-практической стороны следует отметить, что автором выдвинута гипотеза о функционировании в клетках HEK293 единого микродомена депо-управляемого  $\text{Ca}^{2+}$  входа, включающего  $\text{Ca}^{2+}$ -сенсоры STIM и эндогенные каналы Orai, TRPC и CaCC, который может модулировать кальциевую сигнализацию клетки. Колесниковым Д.О. впервые продемонстрировано взаимодействие между каналами TRPC1 и  $\text{Ca}^{2+}$ -сенсором STIM2, что может объяснить возможные механизмы ряда патологий и создает основу для поиска

молекулярных мишеней для их лечения. Таким образом, данное исследование не только вносит вклад в понимание общей системы  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализации, но имеет возможность дальнейшего практического применения.

Представленная работа свидетельствует о том, что Колесников Д.О. прекрасно освоил не только рутинное культивирование и трансфекцию клеток НЕК293, но и методы пэтч-клямп и кальциевый имиджинг, требующие большой концентрации, трудолюбия и настойчивости от исследователя. Корректно проведена статистическая и графическая обработка полученных данных. Изложение результатов исследований в автореферате характеризует соискателя как компетентного специалиста в области клеточной физиологии.

При прочтении автореферата не возникло замечаний, данные изложены четко, понятно и последовательно. Однако, следует отметить, что исследования проведены на одном типе клеток и остается открытым вопрос, насколько универсально функционирование подобного микродомена депо-управляемого  $\text{Ca}^{2+}$ -входа для других клеточных систем.

Результаты работы были доложены на 9 отечественных и международных конференциях, так же опубликованы 3 статьи по теме диссертации в рецензируемых журналах.

Автореферат и опубликованные работы достаточно полно отражают основные положения, выносимые на защиту. Выводы, сделанные автором, правомерны, и отвечают поставленным целям и задачам.

Считаю, что диссертационная работа «Роль депо-управляемого входа кальция в регуляции кальциевых каналов TRPC1 и хлорных каналов  $\text{CaCC}$ » по актуальности, методическому уровню, новизне и перспективности полученных результатов, имеющих фундаментальное и практическое значение, полностью соответствует всем требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Колесников Дмитрий Олегович, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.22 – клеточная биология.

кандидат биологических наук по специальности 03.00.02 (биофизика),  
ведущий научный сотрудник лаборатории «Молекулярная физиология клетки»  
Института биофизики клетки Российской академии наук –  
обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН

Рогачевская О.А.

Контактные данные  
142290, М/О, г. Пушкино, Институтская, 3  
Тел. +7 (905) 5287118, 8 (496) 7739448  
e-mail: o.rogachevskaja@gmail.com

Подпись Рогачевской О.А. заверяю  
03.02.2022 г.

Ученый секретарь ИБФ РАН  
(Мобильный К.С.)