

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Кошеверовой Веры Владиславовны «Роль EEA1-положительных везикул в эндоцитозе эпидермального фактора роста и их биогенез»

Работа В.А. Кошеверовой посвящена подтверждению того, что EEA1-содержащие везикулы являются предсуществующими структурами, направляющими вместе с другими факторами эндоцитированный материал в лизосомы. Часто роль посредника, фактора слияния эндосом и аутофагосом с лизосомами, в этом процессе отводят малым ГТФ-азам семейства Rab, что также стало объектом настоящего исследования в части, касающейся их локализации в EEA1-содержащих везикулах.

В проведенном исследовании полученные данные трактуются в пользу того, что предсуществующий антиген EEA1 является водорастворимым белком, включающимся в мембрану везикул в ходе регуляции постэндоцитозных транспортных путей. Не ясно, почему количество ассоциированного с везикулами EEA1 не меняется в ходе активации РОЭ ЭФР, если утверждается, что обсуждаемые везикулы являются посредниками эндоцитоз-лизосомного пути. Вероятно, метка EEA1 везикул не отражает активацию транспортного потока в лизосомы, у нее своя биология.

Трудно согласиться с тем, что этот EEA1-меченый компартмент вообще является эндосомами в классическом их понимании, когда приставка «эндо» устанавливает принадлежность к потоку органелл извне внутрь клетки. Их биогенез связывается с функцией «секреторного» компартмента ЭПР-АГ, синтезирующего лизосомы и разнообразие других везикул. В этом смысле они вообще не эндосомы, а везикулы регуляции транспортного пути в лизосомы, хотя автор называет их «истинными» эндосомами и в целом на данный момент терминология EEA1-содержащие эндосомы утвердилась в литературе. Аналогично, не ясно, почему эндосомы, осуществляющие эндоцитоз белка с клеточной поверхности автор квалифицирует как «транспортные везикулы», а не эндосомы (стр. 22)

Эксперимент с выявлением связи образования EEA1-везикул с аутофагией при клеточном голодании дал результаты, в которых выявлены слабые различия в количестве и размерах аутофагосом при индукции аутофагии. И размеры представленных красных аутофагосом меньше EEA1-везикул, хотя известно, что аутофагосомы в среднем крупнее РОЭ-эндосом. Для выявления аутофагосом обычно применяется блокировка аутофагосомного потока (слияния аутофагосом с лизосомами) с помощью ингибиторов протеолиза или лизосомной протонной помпы, поскольку срок жизни аутофагосом/аутофаголизосом очень короткий. Важно также использовать антитела к мембранному антигену LC3-II, по-

сколько белок LC3 локализуется больше в цитозоле. Вероятно, эти дополнения могли бы дать более достоверные результаты.

Некоторые утверждения автора, имеющие конкретные результаты по конкретным маркерам, носят общий характер, хотя для утверждения о биологии исследуемых везикул вероятно надо иметь информацию и по другим маркерам.

Проведенное исследование важно для трансгенных технологий, когда после эндоцитоза генетических конструкций надо блокировать их доставку в лизосомы с освобождением эндоцитированного материала в цитозоль с дальнейшей транспортировкой в ядро. Вероятно, поиск путей торможения слияния эндосом с лизосомами посредством воздействия на EEA1-везикулы мог бы быть существенную практическую пользу.

В целом работы выполнена на очень высоком постановочном и методическом уровне, ставит ясные и важные задачи и дает на них вполне адекватные ответы. Используются разнообразные технологии экспериментов на клеточных культурах с обилием используемых эффекторов и соблюдения ключевых экспериментальных условий. Результаты исследований формируют объемную картину функционирования EEA1- везикул в ходе эндоцитоза ЭФР. Практически, все выводы и заключения автора соответствуют представленному экспериментальному материалу. Работа хорошо представлена публикациями. Выполненное исследование В.В.Кошеверовой безусловно заслуживает самой высокой оценки.

Хочется пожелать автору продолжения работы над важными проблемами везикулярного транспорта, который сейчас находится в центре внимания огромного контингента исследователей во всем мире.

06.02.2017.

С.н.с. ЦНИЛ ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава РФ, к.б.н.

Уч. секретарь ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава РФ, проф.

