

Отзыв на автореферат диссертации В.В. Кошеверовой «Роль EEA1-положительных везикул в эндоцитозе рецептора эпидермального фактора роста и их биогенез», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационная работа В.В. Кошеверовой посвящена исследованию EEA1-содержащих везикул как важного везикулярного компартмента, вовлеченного в ранние этапы эндоцитоза. Актуальность темы диссертации не вызывает сомнений прежде всего потому, что понимание закономерностей эндоцитоза рецепторов, активируемых онкогенным сигналингом, может в частности быть полезным при разработке эффективных химиотерапевтических препаратов.

Автором был получен ряд важных и интересных результатов. При выполнении диссертационной работы впервые было показано, что выявляемые в клетках вне зависимости от активации эндоцитозного пути EEA1-везикулы не являются производными плазматической мембраны и формируются через биосинтетический путь. С помощью прижизненной конфокальной микроскопии с использованием флуоресцентно-меченных конструкций EEA1-EGFP и ЭФР-Сy3 подробно исследован процесс эндоцитоза рецептора эпидермального фактора роста (РЭФР), впервые визуализированы процессы слияния и сегрегации предсуществующих EEA1- везикул и эндоцитированных РЭФР-содержащих везикул. Максимальная колокализация ЭФР-содержащих эндосом с EEA1-везикулами наблюдалась через 15 мин после стимуляции эндоцитоза. Ингибитор Arp2/3-зависимой полимеризации актина CK666 и динасор угнетали процесс сегрегации EEA1- и РЭФР-содержащих везикул.

В работе также подробно исследовано взаимодействие малых ГТФаз Rab5 и Rab7 с эндосомами и EEA1-везикулами. С помощью трехканальной конфокальной микроскопии показано, что Rab7 связывался с ЭФР-содержащими эндосомами до стадии их сегрегации от EEA1-везикул. Для изучения последовательности событий, сопровождающих Rab5-Rab7-конверсию в ходе эндоцитоза, были проведены сложные технические эксперименты с двойной трансфекцией флуоресцентно-меченными конструкциями EEA1, Rab5 и Rab7 при стимуляции эндоцитоза ЭФР, меченным Qds655. Было обнаружено, что Rab7 и Rab5 привлекаются к разным доменам гибридной эндосомы. В процессе сегрегации ЭФР-содержащая эндосома, несущая на своей поверхности Rab7, теряет Rab5 и EEA1, которые отделяются в составе единой везикулы. В целом, полученные в диссертационной работе данные подтверждают высказанную автором гипотезу о том, что EEA1-везикулы являются долгоживущим раннеэндосомальным везикулярным компартментом, который играет важнейшую роль на ранних этапах эндоцитоза, транзиторно взаимодействуя с транспортными везикулами. Работа В.В. Кошеверовой выполнена на самом высоком теоретическом и методическом уровне. Полученные автором данные изменяют существующие представления об функционировании эндоцитозного пути сигнальных рецепторов. По научной значимости, достоверности полученных результатов, объему

проведенных исследований работа удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология.

Заведующая лабораторией механизмов канцерогенеза
ФГБУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина" Минздрава России,
доктор биологических наук



Н.А. Глушанкова

7 февраля 2017 г.

115478 Москва, Каширское шоссе 24, ФГБУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина" Минздрава
России

тел. 7-499-323-53-11, natglu@hotmail.com

Специальность - биофизика

Подпись Н.А. Глушанковой заверяю,

Ученый секретарь

ФГБУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина" Минздрава России,

кандидат биологических наук



И.Ю. Кубасова