

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Томилина В.Н. «Кальциевые каналы TRPV5 и TRPV6 в лимфоцитах человека: Идентификация и механизмы регуляции», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Хотя пик интереса к ионным каналам приходится на конец прошлого века, в настоящее время наблюдается своего рода ренессанс в этой области биологии клетки. Это связано с тем, что ионные каналы, которые традиционно рассматривались как пассивные элементы, основная роль которых состоит в регуляции ионной проницаемости плазматической мембраны, фактически, весьма широко вовлечены в реализацию разнообразных клеточных функций. Это стало особенно очевидным после открытия суперсемейства TRP. Ионные каналы участвуют в формировании болевого ощущения, в поддержании энергетического баланса тканей, в поддержании плюропотентности стволовых клеток и активности иммунных клеток. Велика роль ионных каналов в сигнальных процессах. Так, секреция многих сигнальных молекул происходит при непосредственном участии ионных каналов, канальные белки могут формировать макромолекулярные комплексы с рецепторами факторов роста и адгезивными рецепторами, тем самым модулируя активность последних.

В силу сказанного, несомненно являются актуальными цели и задачи, поставленные и решавшиеся в диссертационной работе Томилина В.Н. Исследование, выполненное диссертантом посвящено идентификации Ca^{2+} проницаемых ионных каналов лимфоцитов, как существенной части Ca^{2+} гомеостаза этих клеток, играющей существенную роль в развитии иммунного ответа. Значительная часть усилий была направлена на анализ механизмов регуляции активности этих каналов, идентифицированных как TRPV5 и TRPV6. Автором использовался достаточно широкий арсенал методов и подходов физиологии и цитологии клетки, включая электрофизиологический метод patch clamp в различных конфигурациях, культуральные методы, ингибиторный анализ, иммуноцитохимию, конфокальную микроскопию. Автором был проведен тщательный количественный и достаточный статистический анализ активности одиночных TRPV5- и TRPV6-подобных каналов. Ключевые результаты опубликованы в 4 ведущих рецензируемых журналах, включая Journal Membrane Biology, т.е. прошли достаточно жесткую и профессиональную экспертизу. Были получены следующие основополагающие результаты:

1. Продемонстрирована функциональная активность TRPV5- и TRPV-подобных ионных каналов в клетках лимфоидной линии Jucart и лимфоцитах человека. В согласии с этим, показана локализация соответствующих канальных белков на плазматической мембране данных клеток иммунофлуоресцентными методами.
2. Плотность TRPV5 и TRPV6 на поверхности лимфоидных клеток может регулироваться по механизму клатрин-зависимого эндоцитоза, что может являться одним из основных механизмов регуляции входа Ca^{2+} в эти клетки.

У меня нет принципиальных разногласий с автором по существу работы. Тем не менее, в рамках автореферата мне не удалось найти ответы на следующие вопросы:

1. Нет прямой связи между данными иммунофлуоресцентного анализа и RT-PCR и результатами электрофизиологических экспериментов. Учитывая отсутствие специфических блокаторов TRPV5 и TRPV6, а также то, что эти канальные белки могут образовывать гетероолигомеры, невозможно однозначно приписать наблюдавшуюся

канальную активность в лимфоидных клетках только TRPV5 или TRPV6. Возможно, какой-то из идентифицированных по электрической активности каналов функционирует как TRPV5/TRPV6 комплекс.

2. Вывод 3 вполне согласуется с имеющимися литературными данными и свидетельствует в пользу обозначенной выше возможности. Однако, в рамках автореферата я не нашел никаких свидетельств, полученных собственно автором, которые бы его достаточно поддерживали. Пространственная колокализация иммунофлуоресцентных сигналов TRPV5 или TRPV6 не является достаточным основанием для упомянутого утверждения автора.

В заключении отмечу, что сформулированные выше вопросы не ставят под сомнение основополагающие результаты рецензируемой работы. По актуальности сформулированных задач, спектру используемых методов и качеству полученных данных она в целом представляет собой законченное исследование хорошего класса, вполне удовлетворяющее требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. У меня нет сомнений в том, что ее автор – Томилин В.Н. - заслуживает присвоения искомой степени.

Зав.лабораторией Молекулярной
физиологии клетки Института
биофизики клетки РАН
д.б.н., профессор

С.С.Колесников



Учреждение Российской академии наук
Институт биофизики клетки РАН (ИБК РАН)
142290, Пущино
Московской обл., ул. Институтская, 3
Телефон: (495) 625-59-84
Факс: (4967) 33-05-09
E-mail: admin@icb.psn.ru