РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роб**оту**

**ЛУНЬКО Олесі Володимирівни**

**“Модуляція катіонних каналів великої провідності внутрішньої мембрани ядер нейронів Пуркіньє мозочка щурів”** представлену на рекомендацію до захисту на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

Робота Лунько Олесі Володимирівни присвячена одній з найбільш цікавих та загадкових явищ, що відбуваються під час внутрішньо клітинних процесів, пов’язаними з подіями, в яких активну участь приймає ядро клітини. В даній роботі це нейрони Пуркіньє, а в центрі уваги високо провідні К канали. Нейрон Пуркіньє, як відомо, це біполярний гальмівний ГАМК-ергічний нейрон, що має унікально розгалуження дендритного дерево. Що можна знайти на ядерній мембрані цих нейронів. 30 років тому, вперше було показано, що на ядерній оболонці є 200 пС К канали (Michele Mazzanti, Louis J. DeFelice, Jacques Cohen & Henry Malter, 1990).

Автору вдалось освоїти методику ізоляції ядер нейронів Пуркіньє, при якій зовнішня оболонка руйнувалась і залишалась внутрішня, на якій і проводились дослідження на предмет пошуку іонних каналів та їх модуляції відомими токсинами, катіонами. Робота проведена на високо провідний калієвий канал. В роботі вперше показано блокування активності цього каналу тубокурарином, катіонами гадолінієм та галламіном, створена кінетичну модель роботи поодинокого К каналу високої провідності та на її основі запропоновано механізм блокування активності каналу галламіном.

Робота виконана на високому методичному рівні. Оскільки автор використовував метод петч-клемпу на спеціально обробленій ядерній оболонці, це дало змогу доступу до іонних каналів внутрішньої оболонки з боку перінюклеарного простору. Це унікально можливість отримати дані про властивості поодиноких каналів і це безумовно сильно сторона роботи.

З іншого боку, якщо будь-які речовини з’явились у внутрішньоклітинному середовищі, то яким чином вони можуть вплинути на активність цих каналів. Це може дати уявлення про їх фізіологічну роль, а також може мати інтерес у фармацевтичних компаній.

**Питання.**

1. Як Ви можете пояснити потенціал реверсії -48 мВ у високо провідних К каналів в умовах симетричного розчину KCL 150 мМ.
2. Що означає розподіл частоти амплітуди струму (с. 59). Як Ви відокремлювали події тривалістю 1 мкс пов’язані з генерацією теплового шуму від подій такої ж тривалості, пов’язані з активністю каналу? Скільки заряду може емітувати канал протягом 1 мкс, навіть такий великий як в Вашій роботі?
3. Чи є можливість у Вашого АЦП оцифровувати данні на частоті більше 100 кГц?
4. Яка тривалість коротко живучих подій, на основі яких будується модель роботи каналу?
5. Отрути добавлялись після отримання Гіга омного контакту чи до?

**Пропозиції:**

На мою думку об’єкт дослідження це К канали високої провідності, а предмет дослідження модуляція властивостей К каналів високої провідності. Струм, за визначенням, це кількість заряду, що проходить або емітується каналом за 1-цю часу. Моделювати його в природних умовах можливо лише змінюючи конформацію білка-канала. А отже явища, які Ви досліджуєте пов’язані з роботою каналу. Робота каналу це емісія іонів.

**Зауваження**

1. В методичній частині роботи жодного разу не згадуються кінетичні характеристики струму, на основі яких створюються модель роботи іонного каналу. Це не дає можливості уявити собі на що здатна система реєстрації.
2. В роботі є помилки, які впливають на зміст. Наприклад с. 29 дисертації “Густина розташування каналів … 1 мкм ділянки. “ Напевно це мкм2, на тій же сторінці “… у великій кількості виявлено ядерні пори (15-22 на 1 мкм3)”. Рукопис потребує роботи над орфографічними помилками та логічного поєднання трьох частин роботи.

Перераховані зауваження не впливають на кінцеве враження того, що робота цікава, актуальна, має велике фундаментальне та фармацевтичне значення, тому з урахуванням виправлення недоліків може бути допущена до офіційного захисту.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Старший науковий співробітник відділу біофізики іонних каналів, к.б.н. |  | О. М. Тарасенко |