

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.039.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М.
ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 19.04.2017 г., протокол № 7

О присуждении Колядко Владимиру Николаевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Механизмы избирательного ингибирования контактного пути свертывания крови каноническими ингибиторами» по специальности 03.01.02 – биофизика принята к защите 15 февраля 2017 года, протокол № 4, диссертационным советом Д 002.039.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель – Колядко Владимир Николаевич, 1987 года рождения, в 2010 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «биохимическая физика». С 25 марта 2010 года до 24 марта 2013 года обучался в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук по специальности 03.01.02 – биофизика. В настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории молекулярных механизмов гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных механизмов гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор физико-математических наук **Пантелеев Михаил Александрович**, заведующий лабораторией молекулярных механизмов гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Рошупкин Дмитрий Иванович, доктор биологических наук, профессор кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Маевский Евгений Ильич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке, заведующий лабораторией энергетики биологических систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Институт фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (КФУ) (г. Казань) в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором кафедры биохимии и биотехнологии Института фундаментальной медицины и биологии КФУ Литвиновым Рустемом Игоревичем и утвержденном проректором по образовательной деятельности Университета, доктором физико-математических наук, профессором Таюрским Дмитрием Альбертовичем,

указывает, что диссертация, несомненно, является актуальной, поскольку активация свертывания по контактному пути, в том числе при контакте крови с чужеродными материалами, является одним из механизмов развития тромбоза – главной причины смертности и инвалидности в мире. Ингибиторы фактора XIIa могут стать основой для нового класса анти-тромботических препаратов, не вызывающих кровотечений. В отзыве подчеркнута, что полученные автором результаты характеризуются достоверностью, научной новизной, практической значимостью, приоритетностью и оригинальностью. В заключение отмечено, что диссертационная работа В. Н. Колядко представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение важной для развития биофизики задачи, и удовлетворяет требованиям, установленным пунктами 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 года, в редакции Постановления Правительства РФ № 748 от 02 августа 2016 года, а ее автор, Колядко В. Н., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Соискатель имеет 11 опубликованных работ, все по теме диссертации, из них 5 статей, опубликованных в рецензируемых российских и международных научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и включенных в базу цитирования Web of Science, 2 патента РФ на изобретение и тезисы 4 докладов на российских и международных конференциях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Kolyadko, V.N. New infestin-4 mutants with increased selectivity against factor XIIa / V.N.Kolyadko, S.V.Lushchekina, T.A.Vuimo, S.S.Surov, R.A.Ovspeyan, V.A.Korneeva, I.I.Vorobiev, N.A.Orlova, L.Minakhin, K.Kuznedelov, K.V.Severinov, F.I.Ataullakhanov, M.A.Panteleev // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, N 12. – P. e0144940
2. Korneeva, V.A. Interactions outside the proteinase-binding loop contribute significantly to the inhibition of activated coagulation factor XII by its canonical

inhibitor from corn / V.A.Korneeva, M.M.Trubetskov, A.V.Korshunova, S.V.Lushchekina, V.N.Kolyadko, O.V.Sergienko, V.G.Lunin, M.A.Panteleev, F.I.Ataullakhanov // The Journal of Biological Chemistry. – 2014. – Vol. 289. – P. 14109–14120

3. Колядко, В.Н. Молекулярные механизмы тромбоза. Фундаментальные и прикладные аспекты контактной активации / В.Н.Колядко, В.А.Корнеева, Ф.И.Атауллаханов, М.А.Пантелеев // Биологические мембраны. – 2014. – Т. 31, Вып. 4. – С. 231–243.

На автореферат поступило **5 положительных отзывов**: **1)** отзыв д.б.н. **Муранова Константина Олеговича**, ведущего научного сотрудника лаборатории физико-химических основ биологической регуляции Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, содержит замечание, касающееся разбросанности значений селективности по тексту автореферата; **2)** отзыв к.б.н. **Антиповой Надежды Викторовны**, научного сотрудника группы мембранных биоэнергетических систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, без замечаний; **3)** отзыв к.б.н. **Осидака Егора Олеговича**, научного сотрудника лаборатории биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального научно-исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения РФ, без замечаний; **4)** отзыв к.б.н. **Захаровой Натальи Владимировны**, старшего научного сотрудника лаборатории масс-спектрометрии биомакромолекул Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, без замечаний; **5)** отзыв к.б.н. **Абдуллатыпова Азата Вадимовича**, младшего научного сотрудника лаборатории биотехнологии и физиологии фототрофных организмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института

фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, содержит: а) замечание о влиянии фолдинга ингибиторов, полученных в разных системах, на аффинность ингибирования фактора XIIa, и б) вопрос, какие значения аффинности-селективности достаточны, чтобы рассматривать ингибитор фактора XIIa как перспективный агент для диагностики и терапии.

В отзывах отмечено, что тема диссертации является актуальной, в работе рассмотрена как фундаментальная проблема о связи структуры и функции ингибиторов, так и практическое применение полученного мутантного ингибитора. Автор применил очень удачную комбинацию экспериментальных и вычислительных методов биофизики, биохимии и молекулярной биологии, обосновал и обсудил полученные результаты. Результаты и выводы работы соответствуют поставленным задачам, достоверны и не вызывают сомнений. В качестве достоинств работы отмечены комплексный подход в исследовании и очень высокий методический уровень.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области биофизики и физической биохимии крови, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования и способностью оценить научную и практическую значимость диссертации. Оппонент – д.б.н., проф. Рощупкин Д.И. является ведущим специалистом в области механизмов противотромботического действия ингибиторов. Оппонент – д.м.н., проф. Маевский Е.И. является ведущим специалистом в области заменителей крови и экстремальных состояний организма. Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» является ведущим университетом в области биофизики и молекулярной биомедицины.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная идея блокирования контактной активации свертывания крови высоко избирательными ингибиторами фактора свертывания XIIa (фактора Хагемана);

предложены оригинальные научные суждения, согласно которым высокая избирательность ингибирования фактора XIIa инфестином-4 достигается изменением аминокислотного состава и конформации этого ингибитора;

доказана перспективность использования модифицированного инфестина-4 в качестве антикоагулянта для усовершенствования методов работы с кровью.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения о повышении на два порядка избирательности модифицированного инфестина-4 к фактору XIIa и ослаблении взаимодействия с другими компонентами системы свертывания, которые расширяют представления о механизмах ингибирования протеаз и способствует созданию новых антикоагулянтов;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс существующих базовых методов исследования, таких как методы биофизики и биохимии свертывания крови, коагулологические методы, методы молекулярной динамики и геной инженерии;

изложены экспериментальные данные, которые свидетельствуют о конкурентном механизме ингибирования фактора XIIa; измерены численные значения равновесных констант ингибирования, позволяющие количественно сравнивать действие различных модификаций инфестина-4;

раскрыты причины высокой эффективности и специфичности ингибирования свертывания по контактному пути под действием антикоагулянта на основе мутантного инфестина-4, которые обусловлены высокой избирательностью этого ингибитора;

изучена связь между конформацией петли, участвующей в образовании комплекса с фактором XIIa, и ингибирующей активностью инфестина-4 по отношению к контактному пути свертывания.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан и запатентован новый белковый антикоагулянт на основе мутантного инфестина-4, который характеризуется повышенной избирательностью к фактору XIIIa и предотвращает появление артефактов контактной активации при активации свертывания тканевым фактором;

определены перспективы практического применения нового антикоагулянта в качестве реагента для лабораторной диагностики гемостаза, в том числе для увеличения времени манипуляций, проводимых с жидкой кровью;

представлены рекомендации по использованию антикоагулянта для улучшения лабораторной диагностики и понижения тромбогенности материалов, а также поиску новых высокоизбирательных ингибиторов фактора XIIIa.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных биофизических, биохимических и молекулярно-биологических методов исследования, стандартных методик обработки результатов; показана воспроизводимость результатов исследования при различных постановках эксперимента; научные положения, выводы и результаты, сформулированные в диссертации, полностью обоснованы экспериментальными данными, достоверны и получили признание в научной литературе и на различных конференциях;

теория построена на известных из литературы механизмах действия канонических ингибиторов протеаз и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе известных теорий белок-белковых взаимодействий и моделей системы свертывания крови;

использованы авторские данные и данные, полученные ранее по избирательности ингибиторов фактора XIIIa;

установлено качественное, а для ключевых белков и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в

независимых источниках по константам ингибирования протеаз и по влиянию ингибиторов на систему свертывания;

использованы современные методики сбора и обработки исходной информации с использованием программы OriginPro 6.0; для измеренных величин приведены средние значения по 3 или более повторам и стандартное отклонение.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, в том числе в анализе данных литературы, планировании и проведении научных экспериментов, получении белковых ингибиторов и измерении их характеристик, обработке и интерпретации экспериментальных данных, полученных лично автором, а также данных, полученных при участии автора, апробации результатов исследования на конференциях и семинарах, подготовке публикаций по выполненной работе.

Диссертация Колядко В.Н. «Механизмы избирательного ингибирования контактного пути свертывания крови каноническими ингибиторами» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, удовлетворяющую всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в пунктах 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», в которой содержится решение актуальной задачи по изучению специфичности ингибиторов контактного пути свертывания, имеющей важное значение для развития биофизики и ряда смежных областей.

На заседании 19 апреля 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Колядко Владимиру Николаевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 7 докторов наук по специальности 03.02.01 – биофизика, участвовавших на заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 21, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам председателя
диссертационного совета, д.х.н.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.х.н.

19 апреля 2017 г.



Семенова М.Г.

Мазалецкая Л.И.