

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о соответствии диссертационной работы «Механизмы избирательного ингибирования контактного пути свертывания крови каноническими ингибиторами» Колядко Владимира Николаевича профилю диссертационного совета Д 002.039.01 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям

Комиссия в составе – д.б.н., проф. Розенфельд М.А., д.ф.-м.н., проф., Тихонов А.Н., д.б.н. Дудник Л.Б. – констатирует, что диссертационная работа «Механизмы избирательного ингибирования контактного пути свертывания крови каноническими ингибиторами» по теме, постановке задач, методам исследования и полученным результатам соответствует специальности 03.01.02 – биофизика (биологические науки).

Комиссия отмечает следующие основные научные результаты диссертационной работы и ее новизну:

В диссертационной работе Колядко В.Н. была определена селективность белковых ингибиторов инфестина-4 и кукурузного ингибитора трипсина по отношению к активному фактору свертывания XIIa, а также были внесены мутации в петельный участок инфестина-4, вызвавшие уменьшение неспецифической активности этого ингибитора против ряда сериновых протеаз системы свертывания (против активных факторов Xa, IXa и VIIa) и связанной со свертыванием системы фибринолиза (против плазмина). На основе анализа кинетических данных по ингибированию очищенных сериновых протеаз вариантами инфестина-4 был сделан вывод о том, что в результате мутаций селективность инфестина-4 к фактору XIIa была увеличена на 2 порядка величины.

На основе анализа экспериментальных данных, данных молекулярнодинамического моделирования и белок-белкового докинга был сделан вывод о том, что мутанты инфестина-4 ингибируют фактор XIIa по конкурентному механизму, а их ингибирующая активность может определяться взаимодействиями с каталитическим карманом и автолитической петлей протеазы. На основе анализа результатов, полученных с использованием методов исследования динамики процесса свертывания, был сделан вывод о том, что мутанты инфестина-4 специфически блокируют свертывание по контактному пути и не влияют на динамику свертывания по пути тканевого фактора.

Достоверность полученных результатов.

Диссертационная работа В.Н. Колядко представляет собой цельное, широкое и хорошо структурированное научное исследование, выполненное на высоком экспериментальном и теоретическом уровне с использованием современных методов молекулярного клонирования, ферментативной кинетики, молекулярнодинамического моделирования и биофизики свертывания крови.

Экспериментальная часть работы выполнена на надежном аналитическом оборудовании с использованием стандартизованных методик, используемых при исследовании канонических ингибиторов и ранее апробированных в работах других исследователей.

Высокая степень достоверности результатов и обоснованности выводов рассматриваемой работы обеспечивается соответствием экспериментальных результатов работы с результатами, полученными с помощью теоретических методов, и соотношением их с результатами, опубликованными в современных научных работах.

Все полученные в работе результаты и выводы получили признание в научной литературе и на различных конференциях и подробно обсуждены с привлечением современных научных работ отечественных и зарубежных авторов.

Практическая и научная значимость результатов диссертационной работы.

Из результатов работы следует, что селективность канонического ингибитора по отношению к сериновой протеазе может обеспечиваться его взаимодействием с каталитическим карманом и автолитической петлей протеазы, а также нестандартным взаимодействием с каталитическими остатками нецелевой протеазы.

Полученные в результате работы ингибиторы фактора свертывания XIIIa, обладающие повышенной селективностью и специфически блокирующие контактный путь свертывания, позволяют повысить качество хранения крови и проведения исследования свертывания крови, а их применение способствует выявлению (пато)физиологической роли контактного пути.

Основные результаты диссертационной работы изложены в статьях автора, опубликованных в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Abaeva, A.A. Procoagulant platelets form an alpha-granule protein-covered "cap" on a surface that promotes attachment to aggregates / A.A.Abaeva, M.Canault, Y.N.Kotova, S.I.Obydenyyu, A.O.Yakimenko, N.A.Podoplelova, V.N.Kolyadko, H.Chambost, A.V.Mazurov, F.I.Ataullakhanov, A.T.Nurden, M.-C.Alessi,

M.A.Pantelev // The Journal of Biological Chemistry. – 2013. – Vol. 288. – P. 29621–29632

2. 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

3. 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.Pantelev, F.I.Ataullakhanov // The Journal of Biological Chemistry. – 2014. – Vol. 289. – P. 14109–14120

4. Котова, Я.Н. Роль трансглутаминаз в регулировании формирования фосфатидилсерин-положительной субпопуляции тромбоцитов при их активации / Я.Н.Котова, А.А.Абаева, В.Н.Колядко, А.О.Якименко, Ф.И.Атауллаханов, М.А.Пантелеев // Биологические мембраны. – 2015. – Т. 32, Вып. 4. – С. 245–252

5. 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.Ovsepyan, V.A.Korneeva, I.I.Vorobiev, N.A.Orlova, L.Minakhin, K.Kuznedelov, K.V.Severinov, F.I.Ataullakhanov, M.A.Pantelev // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, N 12. – P. e0144940

Помимо вышеуказанного, автором получены 2 патента РФ и опубликованы тезисы 4 докладов на российских и международных конференциях.

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748).

Диссертация Колядко В.Н. отвечает требованиям пункта 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748). Диссертация не содержит заимствованных материалов и результатов без ссылок на авторов и источники заимствования. В диссертации даны ссылки на результаты работ, выполненных В.Н. Колядко в соавторстве с Абаевой А.А., Атауллахановым Ф.И., Воробьевым И.И., Вуймо Т.А., Котовой Я.Н., Корнеевой В.А., Коршуновой А.В., Кузнецовым К., Луниным В.Г., Луцкиной С.В., Мазуровым А.В., Минахиным Л., Обыденным С.И., Овсепян Р.А., Орловой Н.А., Пантелеевым М.А., Подоплеловой Н.А., Севериновым К.В., Сергиенко О.В., Суровым С.С.,

Трубецковым М.М., Якименко А.О., Alessi M.-C., Canault M., Chambost H., Nurden A.T.

На основании вышеизложенного комиссия рекомендует диссертационному совету Д 002.039.01 принять к защите диссертационную работу Колядко Владимира Николаевича «Механизмы избирательного ингибирования контактного пути свертывания крови каноническими ингибиторами» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве официальных оппонентов:

- доктора биологических наук Рощупкина Дмитрия Ивановича, профессора кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации;
- доктора медицинских наук, профессора **Маевского Евгения Ильича**, зам. директора по науке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

В качестве ведущей организации – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Председатель комиссии:

д.б.н., профессор



Розенфельд М.А.

Члены комиссии:

д.ф.-м.н., профессор



Тихонов А.Н.

д.б.н.



Дудник Л.Б.