

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Євгенія КУЧЕРЯВОГО  
“Дослідження структури та функцій  $\alpha$ C-регіонів та В $\beta$ N-доменів фібрин(оген)у  
за допомогою молекулярних ефекторів”, представлену на здобуття наукового  
ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – біологія

Представлена дисертаційна робота присвячена з'ясуванню механізмів внутрішньо молекулярних перетворень та міжмолекулярних взаємодій, що мають місце в процесі переходу фібриногену у полімерний фібрин, а також пошуку шляхів інгібування цього процесу.

Формування полімерного фібрину з розчинного протейну плазми фібриногену за участі специфічних комплементарних центрів міжмолекулярних взаємодій є складним багатостадійним процесом утворення макромолекулярних протейнових комплексів. На стадії полімеризації має місце утворення двонитчастих протофібрил, латеральна асоціація яких приводить до формування фібрил, а розгалудження протофібрил та фібрил – до появи тривимірної сітки фібрину. Незважаючи на те, що вивчення молекулярних механізмів формування фібрину проводиться в різних лабораторіях світу і триває багато років, питання щодо загальної кількості та участі певних центрів полімеризації на різних стадіях цього процесу залишаються не з'ясованими. Саме тому дисертаційна робота, спрямована на дослідження структурно-функціональних особливостей одиниць фібрин(оген)у  $\alpha$ C-регіону та В $\beta$ N-домену, з використанням молекулярних ефекторів, має важливе наукове значення для з'ясування молекулярних механізмів формування фібрину. Одержанні в ході виконання роботи моноклональні антитіла до певних епітопів розташованих в В $\beta$ N-домені та  $\alpha$ C-регіоні молекули фібрин(оген)у та ряд протеолітичних низькомолекулярних пептидів, що ефективно інгібують процес полімеризації фібрину та перешкоджають тромбоутворенню, становить практичний інтерес. Зважаючи на все сказане, актуальність дисертаційної роботи є очевидною.

Дисертація побудована за загальноприйнятою схемою та оформлена згідно існуючим правилам. Вона складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів експериментальної частини, висновків,

списку використаної наукової літератури. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 7 статей у фахових наукових виданнях та 2 тез у матеріалах міжнародних наукових конференцій.

Використані в роботі сучасні методи дозволили автору професійно виконати великий за об'ємом експериментальний матеріал. Методи дослідження включають методичні підходи для одержання фібриногену/фібрину та їх частково гідролізованих форм, виділення високоспецифічних моноклональних антитіл, афінну хроматографію, вестерн-блот аналіз, електрофорез в ПААГ з ДС-Na, турбідиметричний аналіз, трансмісійну електронну мікроскопію, дослідження агрегації тромбоцитів, статистичний аналіз.

В результаті роботи, що була виконана, з отрути плазунів (*Echis multisquamatis* і *Agkistrodon halys halys*) та інкубаційного середовища *Bacillus thuringiensis* var *israeliensis* виділено і охарактеризовано ряд унікальних фібриногеназ за допомогою яких отримані усічені форми фібриногену: des B $\beta$  1-42, des A $\alpha$  414-610, des A $\alpha$  505-610 і низькомолекулярні пептиди B $\beta$  1-42, A $\alpha$  505-610, A $\alpha$  414-610. Крім того, одержано моноклональні антитіла епітопи яких розташовані у фрагменті B $\beta$ 14-15, A $\alpha$ 537-595, A $\alpha$ 505-610. Застосування означених молекулярних ефекторів дозволило провести комплексне дослідження функції окремих структурних одиниць фібрин(огену) –  $\alpha$ C-регіону та B $\beta$ N-домену на різних етапах формування полімерного фібрину.

Експериментально доведено ключову роль взаємодії  $\alpha$ C-регіону з B $\beta$ N-доменом у комплементарних контактах центрів полімеризації «C»:«c» в процесі полімеризації фібрину. Показано, що  $\alpha$ C-регіони залучаються до побудови протофібрил, стабілізуючи центр полімеризації «C» у комплексі з B $\beta$ N-доменом та забезпечують зближення сусідніх протофібрил на стадії їх латеральної асоціації завдяки формуванню міжмолекулярних  $\alpha$ C: $\alpha$ C-взаємодій. Встановлено, що дисоціація  $\alpha$ C-регіонів від остову молекули фібрину після відщеплення тромбіном фібринопептидів, забезпечує додаткові міжмолекулярні взаємодії молекул фібрину, які кратно збільшують протяжність фібринових



«місточків» між тромбоцитами, що значно збільшує реалізацію клітинних контактів.

При рецензуванні дисертації виникли деякі зауваження:

1. Бажано в огляді літератури зробити більш детальний опис центрів полімеризації фібрину.
2. Необхідно конкретизувати деякі з загальних висновків.
3. Необхідно відредагувати вступну частину дисертації, в якій зустрічаються невдало складені речення, в яких відсутня узгодженість відмінків.
4. Необхідно конкретизувати підписи деяких представлених графіків та фотографій.

Висновок. Вважаю, що дисертаційна робота Євгенія КУЧЕРЯВОГО «Дослідження структури та функцій  $\alpha$ С-регіонів та В $\beta$ N-доменів фібрин(оген)у за допомогою молекулярних ефекторів» за актуальністю, методичним рівнем, об'ємом та новизною отриманих експериментальних результатів, особистим внеском здобувача та науково-практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії, скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р. (№ 44) та може бути представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Кандидат біологічних наук, с.н.с.,  
старший науковий співробітник  
відділу хімії та біохімії ферментів  
Інституту біохімії ім.О.В.Палладіна НАНУ

Олена ЮСОВА

