ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Булгакова Никиты Алексеевича «Физико-химические основы субстратной специфичности ДНК-гликозилаз суперсемейства «спираль–2 поворота–спираль», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия

Диссертационная работа Н. А. Булгакова посвящена выяснению молекулярных механизмов, определяющих субстратную специфичность бактериальных ферментов репарации Fpg и Nei. Эти ферменты имеют сходную пространственную организацию и общий каталитический механизм, однако различаются по предпочтениям в отношении типов повреждённых оснований ДНК. Установление причин таких различий представляет интерес как для биохимии репарации ДНК, так и для понимания общих принципов избирательного узнавания субстратов ферментами.

Актуальность исследования определяется необходимостью связать накопленные структурные сведения о данных ферментах репарации с экспериментальными данными о роли отдельных элементов активного центра в узнавании и удалении повреждений. В работе рассмотрены три взаимосвязанных аспекта этой задачи: электростатические свойства каталитического центра Fpg, участие петли связывания повреждённого основания в формировании субстратной специфичности и структурные основания толерантности Nei к нуклеотиду напротив повреждения. Такая постановка исследования позволяет сопоставить вклад локального электростатического окружения, конформационной подвижности белка и геометрии белково-нуклеиновых контактов.

Существенный методический результат работы состоит в разработке подхода к исследованию электростатического окружения активного центра Fpg с использованием pH-чувствительной нитроксильной спин-метки, присоединённой к ДНК-лиганду. Сочетание непрерывного ЭПР, ESEEM и

молекулярно-динамического моделирования позволило охарактеризовать положение метки и её доступность растворителю. Автор оговаривает и ограничения предложенного подхода, в том числе невозможность полностью разделить электростатический и полярный вклады в наблюдаемый эффект.

Согласование биохимических результатов с клеточным экспериментом повышает обоснованность вывода о функциональной значимости исследуемых объектов. Молекулярно-динамический анализ дополняет эти наблюдения, связывая активность фермента с вероятностью сохранения каталитически продуктивной конформации данного участка.

Самостоятельный интерес представляет структурная часть работы. Получены три кристаллические структуры ковалентных конъюгатов Nei E. coli с ДНК, содержащей цитозин, гуанин или тимин напротив участка удалённого повреждения, с разрешением 1,75–1,85 Å. В сопоставлении с известной структурой комплекса с аденином эти данные выявляют различия в размещении пуриновых и пиримидиновых оснований.

Достоверность основных результатов поддерживается использованием взаимодополняющих комплементарных биохимических и физико-химических методов: направленного мутагенеза, выделения белка, ферментативной кинетики, измерения сродства к ДНК, ЭПР-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и молекулярно-динамического моделирования. В автореферате приведены количественные характеристики, необходимый статистический анализ, оценки погрешностей и необходимые контрольные сопоставления.

Личный вклад соискателя значителен и корректно обозначен с разграничением выполненных им исследований и работ соавторов. Основные результаты представлены в трёх статьях в рецензируемых научных журналах высокого уровня; полученные структуры депонированы в Protein Data Bank.

Теоретическая значимость работы заключается в уточнении механизмов, посредством которых близкие по строению ферменты различают повреждённые основания и приспосабливаются к разным основаниям

комплементарной цепи. Практический интерес имеют перспективы использования результатов для создания ингибиторов репарации для преодоления проблемы антибиотикорезистентности.

По содержанию автореферата имеются следующие замечания и вопросы.

1. Хотелось бы увидеть больше комментариев автора о перспективах дальнейшего практического использования полученных результатов для разработки кандидатов – антибиотиков нового типа.
2. Было бы интересно ознакомиться с обоснованием неинвазивности подхода использования ЭПР-меток и допустимости такого подхода.

Высказанные замечания касаются преимущественно границ интерпретации результатов и точности отдельных формулировок. Они не меняют положительной оценки исследования. Автореферат последовательно раскрывает постановку задач, ход работы и полученные результаты, содержит достаточный экспериментальный материал для оценки их научной значимости.

Судя по представленному автореферату, диссертация Булгакова Никиты Алексеевича «Физико-химические основы субстратной специфичности ДНК-гликозилаз суперсемейства «спираль–2 поворота–спираль» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена задача, имеющая высокое фундаментальное научное значение для развития биохимии репарации ДНК. Работа соответствует критериям, установленным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Тема и содержание работы соответствуют утверждённому паспорту специальности, а её автор – Булгаков Никита Алексеевич – заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. – биохимия.

Рецензент:

Мишин Алексей Викторович, кандидат физико-математических наук (специальность 03.01.02 – биофизика), старший научный сотрудник – заведующий лабораторией структурной биологии рецепторов, сопряжённых с G-белком, Центра исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (МФТИ, Физтех).

Почтовый адрес по месту работы: 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9.

Телефон: +7 (916) 810-07-84.

Электронная почта: mishinalexey@phystech.edu.

«18» ноября 2026 г. _____ / А. В. Мишин /

Даю свое согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета и их дальнейшую обработку.

«18» ноября 2026 г. _____ / А. В. Мишин /

Подпись кандидата физико-математических наук Мишина Алексея Викторовича заверяю:

адм. канц.
Кораблева О.А.

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
ДЛЯ ДОКУМЕНТОВ
Административный отдел