ОТЗЫВ

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

Диссертация Булгакова Н.А. направлена на установление молекулярных механизмов узнавания и удаления окислительных повреждений из ДНК двумя ферментами суперсемейства «спираль–2 поворота–спираль»: формамидопиримидин-ДНК-гликозилазой (Fpg) и эндонуклеазой VIII (Nei).

Актуальность исследования заключается в значимости ферментов указанного суперсемейства в механизме репарации ДНК и их ингибирование может рассматриваться как одна из стратегий борьбы с патогенными штаммами антибиотикорезистентных микроорганизмов.

В диссертационной работе Булгакова Н.А. проведен всесторонний анализ механизмов действия ферментов Fpg и Nei комплексом физико-химических методов: сайт-направленный мутагенез и рекомбинантный синтез белков в клетках *E. coli*; оптимизированы протоколы выделения и хроматографической очистки белков; на радиоактивно- и флуоресцентно-меченых олигонуклеотидных дуплексах в условиях стационарной кинетики и кинетики одного оборота измерены каталитические параметры; методом термофореза установлено сродство ферментов к ДНК, методом ЭПР исследована электростатика активного центра с использованием pH-чувствительной нитроксильной спин-метки, конъюгированной с ДНК-лигандом; проведен скрининг условий кристаллизации и методом РСА определена с высоким разрешением структура ковалентных конъюгатов фермент–ДНК; методом молекулярно-динамического моделирования и биоинформатического анализа проанализирована структура и динамика изучаемых комплексов.

Новизна работы заключается в разработке нового подхода к экспериментальной оценке электростатического потенциала в активном центре ДНК-гликозилаз, связанных с ДНК-субстратом, основанный на нитроксильной спин-метке и методах непрерывного ЭПР и ESEEM. Установлен специфический вклад тетрапептидной петли 219–222 Fpg в узнавание 8-оксогуанина. Впервые получены кристаллические структуры ковалентных конъюгатов Nei *E. coli* с ДНК, содержащей C, G или T напротив повреждения и впервые показано, что пиримидиновые основания напротив повреждения переходят в син-конформацию относительно N-гликозидной связи, тогда как пуриновые основания сохраняют анти-конформацию и образуют водородную связь с остатком Gln69 интеркалирующей петли 69–71. Количественно охарактеризован стерический вклад в дискриминацию комплементарного основания ферментом Nei *E. coli* через серию ДНК-субстратов с модифицированными по C5-положению пиримидинами.

Диссертация демонстрирует высокую практическую значимость. Результаты работы могут использоваться для создания ферментов с заданной субстратной специфичностью, разработанный на основе ЭПР метод измерения электростатики активного центра фермента в комплексе с ДНК-субстратом может применяться для широкого класса лигандов со спин-меткой вблизи активного центра. Кристаллографические структуры комплексов ферментов с субстратами позволяют проводить рациональный дизайн новых ингибиторов бактериальных ДНК-гликозилаз, снижающих устойчивость патогенных микроорганизмов к антибиотикам.

Результаты диссертационной работы Булгакова Н.А. опубликованы в рейтинговых рецензируемых научных изданиях. Публикации отражают основные этапы исследования и подтверждают существенный личный вклад автора.

Исходя из анализа содержания автореферата и публикаций по теме работы, можно сделать вывод, что рассматриваемая работа представляет собой целостное широкомасштабное исследование. Материалы диссертационной работы в полной мере обладают новизной, практической значимостью и представляют значительный интерес для широкого круга исследователей.

К работе нет вопросов принципиального характера, однако есть ряд замечаний к тексту автореферата: по тексту довольно часто встречаются англицизмы («мутаторный штамм», «форвардный тест» и др.), имеется ряд опечаток, а также не перечислены конференции, на которых автор представлял работу. Высказанные замечания носят дискуссионный или редакционный характер, не затрагивают основных положений, выносимых на защиту, и не снижают общей положительной оценки выполненной работы.

В целом, диссертация Булгакова Н.А. является завершённой научно-квалификационной работой и 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 паспорту специальности, а её автор – Булгаков Никита Алексеевич – заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. – биохимия.

Заведующий кафедрой медицинской физики
Института физики ФГАОУ ВО «Казанский
(Приволжский) федеральный университет»,
доктор физико-математических наук
(специальность 03.01.02 – биофизика) Усачев Константин Сергеевич

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

д.ф.-м.н. К.С. Усачев
«23» октября 2026

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет", 420008, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18, корп.1
E-mail: k.usachev@kpfu.ru

Подпись Усачева К.С. верна
ИНСТИТУТ ФИЗИКИ
Помощник директора
Института физики К(П)ФУ
КУРАНОВА
Майя Хусоюновна