

Отзыв

на автореферат диссертации **Давлетгильдеевой Анастасии Тимуровны**
«Кинетические механизмы действия AP-эндонуклеаз из разных структурных семейств», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия

Эндонуклеазы – это обширный класс ферментов нуклеинового обмена, которые обладают общей функцией, заключающейся в катализе гидролиза фосфодиэфирной связи внутри последовательности ДНК. Многие из этих ферментов являются составной частью клеточных систем (например, систем рестрикции-модификации, репарации, рекомбинации) и являются ключевой составляющей их работы. Объектами исследования диссертации Давлетгильдеевой А.Т. являются AP-эндонуклеазы. Они являются участниками эксцизионной репарации оснований (BER), в рамках функционирования которой они отвечают за гидролиз апуриновых/апиримидиновых участков (AP-сайтов). Последние возникают в результате действия специфичных гликозилаз, удаляющих поврежденное гетероциклическое основание. AP-эндонуклеазы являются уникальными ферментами, которые кроме AP-эндонуклеазной активности, выполняют и ряд других функций. Выяснение кинетических факторов, влияющих на эффективность и специфичность действия этих ферментов, представляет собой важную задачу, решение которой позволит направлено влиять на их свойства. В связи с этим, диссертационная работа Давлетгильдеевой А.Т., заключающаяся в сравнительном исследовании механизмов взаимодействия пяти AP-эндонуклеаз с модельными ДНК-субстратами, содержащими различные структурные особенности, является актуальным научным исследованием.

В качестве основного метода исследования Давлетгильдеева А.Т. использовала метод «остановленного потока» с регистрацией флуоресценции остатка 2-аминопурина или FRET-пары в ДНК. Выбор метода вполне обоснован, поскольку каталитически значимые изменения конформации ферментов в процессе BER происходят в диапазоне времени в несколько миллисекунд.

Давлетгильдеевой А.Т. впервые было проведено кинетическое исследование взаимодействия AP-эндонуклеазы человека hAPE1 с ДНК-субстратами, обладающими

неканонической структурой, в частности с G-квадруплексами. Показано, что формирование каталитически компетентного комплекса в случае G-квадруплексного субстрата является скоростью-лимитирующей стадией расщепления ДНК.

Важнейшей частью диссертационной работы является исследование способности трех эндонуклеаз APE1-типа инициировать достаточно мало изученный тип репарации – инцизионную репарацию поврежденных нуклеотидов (NIR), возникающих, главным образом, в результате воздействия ионизирующего излучения и окислительного стресса. В целом, полученные данные показывают, что NIR-активность AP-эндонуклеаз является общей функцией этого класса ферментов. Однако конформационные изменения фермент-субстратных комплексов, предшествующих образованию каталитически компетентного комплекса, для ферментов из разных эукариотических организмов различны.

Несомненным достоинством работы Давлетгильдеевой А.Т. является детальный анализ свойств апуриновой/апириимидиновой эндонуклеазы EndoQ из *Pyrococcus furiosus*, которая не обладает структурным сходством с известными AP-эндонуклеазами. Сравнение кинетических данных для набора субстратов позволило установить, что в случае этого фермента гетероциклическое основание, расположенное в комплементарной цепи напротив AP-сайта, влияет на расщепление ДНК. В целом специфичность эндонуклеазы EndoQ более «строгая» по сравнению с другими эндонуклеазами.

Материал в автореферате изложен логично и грамотно, хорошо иллюстрирован. Хочется особенно отметить, что выводы сформулированы четко и ёмко. Они позволяют понять суть проделанной работы даже без её прочтения.

В качестве замечания можно указать отсутствие в автореферате упоминания о том, как такие модификации, как остатки 2-аминопурина и 2-гидроксиметил-3-гидрокси-тетрагидрофурана (устойчивый аналог AP-сайта), локализованные в одном из положений ядра квадруплекса влияют на его структуру.

Это замечание не снижает качества данной работы. Полученные автором результаты имеют фундаментальное значение, и, несомненно, представляют большой научный интерес. Об этом свидетельствует три статьи, опубликованные Давлетгильдеевой А.Т. по теме диссертационной работы в международных журналах, а также апробация результатов на нескольких международных конференциях.

Диссертационная работа Давлетгильдеевой А.Т. «Кинетические механизмы действия AP-эндонуклеаз из разных структурных семейств» представляет законченное научное исследование и полностью соответствует требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Автор работы, Давлетгильдеева Анастасия Тимуровна, несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Главный научный сотрудник отдела химии нуклеиновых кислот
Научно-исследовательского института физико-химической биологии
имени А.Н. Белозерского Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»,
доктор химических наук, профессор

Кубарева Елена Александровна

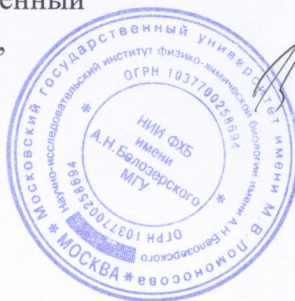
119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, строение 40

Телефон: +7(495)939-54-11

Электронная почта: kubareva@belozersky.msu.ru

Подпись Кубаревой Е.А. удостоверяю.

Директор Научно-исследовательского института физико-химической биологии
имени А.Н. Белозерского Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»,
академик РАН



В.П. Скулачев

«13» сентября 2022 г.