

Отзыв на автореферат

Дятловой Евгении Алексеевны по теме диссертации
«МЕХАНИЗМЫ ПОИСКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗАМИ
СУПЕРСЕМЕЙСТВ «СПИРАЛЬ — ДВА ПОВОРОТА — СПИРАЛЬ» И « α/β -
УКЛАДКА»»

на соискание степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.4. «биохимия»

Эффективная репарация повреждений ДНК критически важна для поддержания стабильности генома живых организмов и корректной передачи генетической информации потомству. Эффективность репарации зависит от своевременного и точного распознавания повреждений ДНК. Механизмы поиска разных типов повреждений многими ферментами эксцизионной репарации оснований до конца неясны. В настоящей работе исследуются механизмы поиска мишеней ферментами эксцизионной репарации оснований (ЭРО): эндонуклеазами VIII *E. coli*, NEIL1 и NEIL2 мыши, а также урацил-ДНК-гликозилазами *E. coli* и вируса осповакцины.

Цель, задачи и выводы работы четко сформулированы. Достоверность полученных данных не вызывает сомнений. Исследование выполнено на высоком научном-методическом уровне с использованием современных методов биохимии и молекулярной-биологии: методов геной инженерии, продукции и выделения рекомбинантных белков, методов измерения ферментативной кинетики, методов анализа взаимодействия ферментов с ДНК с помощью микромасштабного термофореза, а также современных биологических вычислительных подходов. Процессивность ферментов при поиске повреждений ДНК оценивалась с помощью оригинальной методики анализа скорости полного расщепления олигонуклеотидного ДНК-субстрата с двумя повреждениями.

В работе впервые было продемонстрировано, что NEIL2, в отличие от NEIL1, не использует процессивный механизм поиска мишеней в ДНК. Предложена гипотеза о ключевой роли взаимодействующего с дуплексом ДНК заряженного остатка Arg117 в обеспечении высокой процессивности фермента NEIL1. Был проведен анализ влияния структуры ДНК-субстрата на процессивность ферментов ЭРО. Показано, что эффективность транслокации урацил-ДНК-гликозилаз вдоль ДНК зависит от типа препятствия и существенно снижается только при наличии объемного ковалентного аддукта (на модели тимина с остатком флуоресцеина) в большой бороздке, но не при наличии разрывов и нековалентных связанных лигандов.

Свойства ДНК-гликозилазы вируса осповакцины (vvUNG) из семейства поксвирусов были исследованы в работе наиболее детально. Функции vvUNG отличаются от других ДНК-гликозилаз, поскольку этот фермент служит фактором процессивности вирусной ДНК-полимеразы E9. Было показано, что vvUNG осуществляет высокопроцессивный поиск мишеней преимущественно за счет механизма слайдинга, преодолевая одноцепочечные разрывы и короткие бреши ДНК. Для поиска мишеней vvUNG предложена модель «одномерного случайного блуждания». Произведенные на основании модели расчеты позволили оценить процессивность vvUNG в ~4200 нуклеотидов за один акт связывания с ДНК.

Важно отметить, что в работе был проведен скрининг потенциальных низкомолекулярных ингибиторов vvUNG, отобранных на основе компьютерного моделирования к UNG человека. Впервые была продемонстрирована способность тетрагидро-2,4,6-триоксопиримидинилиденов в значительной степени ингибировать активность и процессивность vvUNG *in vitro*. Несмотря на то, что натуральная оспа была ликвидирована в 1980 г. исследование поксвирусов не теряет актуальности: в 2022 г. была зарегистрирована вспышка оспы обезьян. Таким образом, данная часть работы имеет не

только очень высокую новизну, но и потенциал применения при разработке противовирусных препаратов.

Есть небольшое замечание по оформлению и представлению данных. В тексте много рассуждений о статистической значимости отличий между значениями, но не указаны p -value. Можно рекомендовать обозначить уровни статистической значимости на графиках звездочками (с расшифровкой в подписях к рисункам). Например, 1 звезду для $<0,05$, две звезды для $p < 0,01$ и три звезды для $p < 0,001$. Замечание носит рекомендательный характер и не влияют общую высокую оценку работы.

В целом работа является целостным законченным научным исследованием. Выводы и представленные в работе гипотезы хорошо обоснованы. Высокий научный уровень и значимость полученных результатов подтверждаются тремя публикациями в ведущих российских и международных журналах.

Представленная к защите работа и автореферат полностью соответствуют всем требованиям, установленным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а Дятлова Е. А. заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. «биохимия».

Старший научный сотрудник лаборатории механизмов ответа на повреждения ДНК
Института биологии гена РАН,
ул. Вавилова, 34/5, Москва, Россия, 119334

amakarova-img@yandex.ru

к.б.н. Макарова А. В.

Я, Макарова Алена Владимировна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой Дятловой Евгении Алексеевны.

Подпись заверяю

Ученый секретарь Института биологии гена РАН,

д.б.н. Набировкина Елена Николаевна

