



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

**Ендуткина Антона Валентиновича**

**«Роль структуры ДНК-субстратов и структурных элементов белка в процессах узнавания и удаления повреждений 8-оксогуанин-ДНК-*N*-гликозилазами человека и *E. coli*»**

на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 — биохимия

Окислительные повреждения оснований, очень часто встречающиеся в ДНК, играют значительную роль в онкогенезе, старении и многих патологических процессах, таких как нейродегенерация. Накоплению этих повреждений препятствует система репарации ДНК, которая служит важнейшим фактором, обеспечивающим целостность генома клетки.

Из числа окисленных оснований ДНК 8-оксогуанин представляет особую опасность из-за частой встречаемости и высокой мутагенности. Репарация этого повреждения идет по пути эксцизионной репарации оснований с участием ДНК-гликозилаз OGG1 у эукариот или Fpg у бактерий. Эти ферменты репарации обладают высокой специфичностью, которая может зависеть не только от структуры и динамики молекулы фермента, но и от структурных особенностей субстрата. Вместе с тем, остается неясным, каким образом ДНК-гликозилазы способны быстро и специфично различать достаточно редкое повреждение в ДНК.

В поисках ответа А. В. Ендуткин предпринял попытку комплексно охарактеризовать процесс узнавания и расщепления поврежденной ДНК 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазами человека и *E. coli*. На первом этапе в ходе сравнительного анализа активностей ферментов Fpg и OGG1 было установлено, что кинетические параметры реакции удаления 8-оксогуанина зависят от локальных конформационных параметров ДНК. Полученные результаты способствуют пониманию того, как состав ДНК может влиять на ее узнавание ферментами репарации или как нуклеотидный контекст повреждения влияет на протекание реакции, что, к сожалению, часто остается за пределами систематических исследований.

Очевидной сильной стороной работы служит тесное сотрудничество автора с ведущими группами России и США. Так следующий этап, посвященный выявлению функционально важных структурных особенностей hOGG1 и Fpg *E. coli*, выполнен совместно со специалистами в области биоинформатики и молекулярной динамики институтов Сибирского отделения РАН и Университета штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук. Результатом этого плодотворного сотрудничества стало экспериментальное подтверждение, во-первых, предсказаний коэволюционного анализа, впервые примененного для выявления важных внутрибелковых взаимодействий, удаленных от активного центра фермента, во-вторых, важности для узнавания 8-оксогуанина промежуточных взаимодействий в ходе выворачивания поврежденного основания в активный центр обеих ДНК-гликозилаз. Достаточно очевидно, что сделанный А. В. Ендуткиным и коллегами задел позволит в дальнейшем использовать коэволюционный метод для рационального дизайна ферментов,



*School of Medicine*

*Department of Pharmacological Sciences*

имеющих различные приложения. Но, кроме того, хотелось бы узнать, возможно ли использование такого анализа для установления функциональной значимости реальных полиморфизмов, например, ассоциированных с заболеваниями? Также представляет интерес влияние структуры субстратов содержащих 8-оксогуанин на стимуляцию активности OGG1 в присутствии АП-эндонуклеазы 1 (APEX1) человека. Возможно ли изучение таких белковых взаимодействий используя методы разработанные автором в данной работе?

Доказанная роль промежуточных взаимодействий в узнавании 8-оксогуанина хорошо согласуется с современным представлением о многостадийном механизме узнавания поврежденных оснований ДНК-гликозилазами, который позволяет надежно отличать повреждения на фоне огромного избытка нормальной ДНК. Однако один важный вывод, как показалось, остался не достаточно сильно акцентированным. В работе А. В. Ендуткина и коллег достоверно показано, что, несмотря на отсутствие структурной гомологии между OGG1 и Fpg, оба белка эффективно используют очень схожие энергетические и структурные механизмы многостадийной верификации повреждений. Такая схожесть в механизме достаточно явно намекает на возможность его использования ДНК-гликозилазами и других структурных классов, а значит, сформулированные выводы потенциально имеют более глобальный характер. Беглый анализ последних публикаций 2018 г. подтвердил это предположение, где в двух независимых группах показан схожий многостадийный механизм для тимин-ДНК-гликозилазы (TDG). Все вышесказанное ни в коем случае не умаляет значимости и достоверности результатов А. В. Ендуткина. Большая часть результатов опубликована в высокорейтинговых журналах и представлена на международных конференциях, что добавляет научного веса данному исследованию. Также хочется отметить большой объем проделанной экспериментальной работы и количество используемых методов. Поставленные цели и задачи сформулированы ясно и хорошо отражают хронологию дальнейших экспериментов, выводы соответствуют результатам и не вызывают сомнений.

По актуальности поставленных задач, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а ее автор Ендуткин Антон Валентинович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 — биохимия.

Виктория Сидоренко, к.б.н., профессор  
Департамент Фармакологии  
Университета Штата Нью-Йорк, Стони Брук, США  
Электронный адрес: [viktoriya.sidorenko@stonybrook.edu](mailto:viktoriya.sidorenko@stonybrook.edu)

21 Ноября 2018 г.