

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Косовой Анастасии Андреевны «Взаимодействие многофункциональных белков человека — Ku-антигена и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы — с апуриновыми/апиримидиновыми сайтами в ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 — Биохимия

В диссертационной работе Косовой А.А. проводился поиск белков клеточных экстрактов человека, способных взаимодействовать с одними из наиболее распространенных повреждений ДНК — апуриновыми/апиримидиновыми (AP) сайтами. Белки, формирующие боргидрид-зависимые аддукты с AP-сайтами в составе ДНК-дуплекса с 5'- и 3'-выступающими одноцепочечными концами, были идентифицированы как Ku80-субъединица Ku-антигена и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH). Главная функция Ku заключается в участии в репарации двухцепочечных разрывов ДНК по механизму негомологичного соединения концов (НГСК), а GAPDH широко известна как фермент гликолиза. Кроме того, Косовой А.А. было детально изучено взаимодействие данных белков с различными ДНК, содержащими AP-сайты.

Ранее двумя группами авторов было показано, что Ku способен взаимодействовать с AP-сайтами. Считалось, что данное взаимодействие может сопровождаться расщеплением AP-сайта, только если он находится в составе выступающих одноцепочечных участков ДНК или вблизи от них, и таким образом Ku подготавливает «грязные» концы двухцепочечного разрыва к лигированию. Работа Косовой А.А. является логическим продолжением предыдущих исследований взаимодействия Ku с AP-сайтами. Автором была детально изучена способность Ku формировать боргидрид-зависимые аддукты с различными типами AP-ДНК-структур. Кроме того, было впервые показано, что Ku способен расщеплять AP-сайты, находящиеся в дуплексной части ДНК далеко от ее концов, хотя для этого ДНК-дуплекс должен иметь длинные одноцепочечные концы. Такая структура ДНК имитирует кластерное повреждение, которое может возникать в клетках под действием ионизирующего излучения и лекарственных препаратов-радиомиметиков, а также в ходе переключения изотипов иммуноглобулинов в В-клетках. Также в работе был установлен механизм, по которому Ku расщепляет AP-сайты, и показано, что Ku проявляет специфичность, предпочтительно расщепляя апуриновые сайты в AP-ДНК-дуплексе с выступающими концами. Таким образом, Ku способен инициировать альтернативный путь репарации AP-сайтов, находящихся в составе кластерных повреждений определенного типа. Данный путь может реализовываться в клетках человека, когда подавлена активность APE1 — основного фермента, отвечающего

за репарацию AP-сайтов, например, при фармакологическом ингибировании этого белка в некоторых видах комбинированной терапии опухолевых заболеваний.

В работе Косовой А.А. была впервые обнаружена способность гликолитического фермента GAPDH взаимодействовать с AP-сайтами. Согласно литературным данным, GAPDH является многофункциональным белком и может перемещаться в ядро и взаимодействовать с интактной и поврежденной ДНК и некоторыми ферментами репарации. Кроме того, в работе Косовой А.А. установлено, что GAPDH способна формировать два типа аддуктов с AP-сайтами: боргидрид-зависимые (опосредованные образованием основания Шиффа) и боргидрид-независимые, механизм образования которых неизвестен. Показано, что GAPDH не обладает способностью расщеплять AP-сайты, однако предпочтительно формирует аддукты с AP-ДНК, расщепленной по определенному механизму. Данные, полученные Косовой А.А., свидетельствуют в пользу «отрицательной» роли GAPDH в репарации и ее проапоптотическом действии, поскольку, формируя необратимый комплекс с AP-сайтом, GAPDH осложняет его репарацию. Перемещение GAPDH в ядро и ее связывание с поврежденной ДНК, вероятно, происходит в клетках в условиях окислительного стресса. Таким образом, работа Косовой А.А. показывает, что идентификация белков, взаимодействующих с AP-сайтами, помогает выявить ранее неизвестные дополнительные функции таких белков.

Вместе с тем, имеется ряд пожеланий, которые могли бы дополнить понимание полученных данных, в частности:

1. В разделе 1.1. при описании поиска белков клеточных экстрактов, способных взаимодействовать с AP-сайтами в составе различных ДНК-структур, желательно было пояснить, почему в клетках СНО не формируются аддукты с кажущейся молекулярной массой 90 кДа и 100 кДа, а визуализируются только 45-кДа аддукты

2. Данную работу могло бы украсить установление роли обнаруженных взаимодействий GAPDH с AP-сайтами *in vivo*.

Таким образом, работа Косовой А.А. является завершенным научно-квалификационным исследованием, выполненным на высоком научном и методическом уровне. Достоверность экспериментального материала не вызывает сомнения. Работа отличается научной новизной и практической значимостью. Выводы, сделанные Косовой А.А. на основе полученных экспериментальных данных, являются четкими и обоснованными. Материалы диссертации неоднократно докладывались на российских и международных конференциях, и ее содержание полностью отражено в публикациях и автореферате. Указанные недостатки ни в коей мере не снижают ценности результатов проведенного исследования и носят рекомендательный характер. Диссертация

соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Доцент кафедры биоинженерии Биологического факультета

МГУ имени М.В. Ломоносова

22 марта 2018 года

Н.В. Малюченко

Официальный адрес и название организации:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»,
Биологический факультет

119234, Москва г, Ленинские Горы ул,1, стр.12

+8(495)938-00-05

mal_nat@mail.ru

ПОДПИСЬ
ЗАВЕРЯЮ

Документовед



Малюченко Н.В.