

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

**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

Апуриновые/апиримидиновые (АП) сайты встречаются в ДНК живых организмов в большом количестве. Они возникают в результате гидролиза *N*-гликозидной связи между дезоксирибозой и азотистым основанием – спонтанно либо в процессе репарации некоторых повреждений ДНК, а также контролируемого деметилирования ДНК. Независимо от происхождения, АП-сайты являются цитотоксичными и мутагенными, поэтому в клетках существуют разнообразные пути распознавания и исправления этих повреждений. Ранее было проведено множество исследований, в ходе которых были выявлены белки, отвечающие за ключевые стадии разных механизмов репарации. Но, как показывают недавние работы, в этом процессе могут быть задействованы и белки, для которых это не является основной функцией. Целью диссертационной работы А. А. Косовой были выявление и характеристика белков человека, которые специфично взаимодействуют с АП-сайтами.

В своей работе А. А. Косова усовершенствовала ранее апробированный ее коллегами подход, основанный на аффинной хроматографии и масс-спектрометрическом анализе, и успешно применила его для идентификации двух белков экстрактов клеток человека, формирующих мажорные боргидрид-зависимые аддукты с АП-сайтами в ДНК с одноцепочечными участками, – Ku80-субъединицы Ku-антигена и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH). Обнаруженное взаимодействие с АП-сайтами – одна из дополнительных (“moonlighting”) функций этих белков, причем в случае GAPDH оно представляет особый интерес, поскольку основная роль этого белка в клетке – участие в гликолизе, и он обычно локализуется в цитоплазме. В связи с этим хотелось бы узнать, присутствуют ли в составе других мажорных аддуктов, регистрируемых при «сшивке» белков клеточных экстрактов с АП-сайтами в ДНК, белки, для которых репарация таких повреждений является основной функцией (в частности, апуриновая/апиримидиновая эндонуклеаза 1 (APE1), которая инициирует основной путь расщепления АП-сайтов в клетках высших эукариот)?

Выделенные из клеток человека Ku и GAPDH действительно специфично связывались с синтетическими ДНК, в которых присутствовал АП-сайт. Более того, была продемонстрирована способность Ku расщеплять АП-сайт по механизму  $\beta$ -элиминирования, в то время как GAPDH не обладала АП-лиазной активностью. Дальнейший биохимический анализ позволил более детально охарактеризовать оба белка и сформулировать гипотезы об их новых возможных ролях в клетке. Результаты, полученные в данной работе, в дальнейшем могут помочь не только в понимании основных процессов жизнедеятельности клетки, но и в создании новых лекарств для лечения онкологических заболеваний. Хочется надеяться, что начатые автором исследования взаимодействий Ku и GAPDH с повреждениями ДНК *in vitro* будут продолжены с использованием методов *in vivo*.

В данной работе А. А. Косова продемонстрировала уверенное владение множеством биохимических методов. Высокое качество, актуальность и важность работы подтверждаются несколькими публикациями автора как в российских, так и в зарубежных журналах, а также большим количеством докладов на международных конференциях. Диссертация соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, и А. А. Косова, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Мушеев Михаил Юрьевич, Ph.D.

Научный сотрудник, группа проф. С. Niehrs

Институт молекулярной биологии, г. Майнц, Германия

E-mail: m.musheev@imb-mainz.de

Тел.: +49-6131-39-21402

21.03.2018

