

Dr Svetlana Khoronenkova  
Wellcome Trust Sir Henry Dale Fellow

Department of Biochemistry  
University of Cambridge  
Sanger Building  
80 Tennis Court Road  
Cambridge CB2 1GA, UK  
Tel: +44(0)1223 761449  
Email: sk870@cam.ac.uk



### 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

Апуриновые/апиримидиновые (AP) сайты — один из наиболее часто встречающихся типов повреждений геномной ДНК. AP-сайты возникают как спонтанно, так и в фермент-зависимых процессах удаления поврежденных оснований ДНК. Нерепарированные AP сайты мутагенны и цитотоксичны. В большинстве случаев клетки осуществляют эффективную репарацию этих повреждений ДНК. Однако при воздействии некоторых факторов, таких как ионизирующее излучение или лекарственные препараты-радиомиметики, AP-сайты могут входить в состав кластерных повреждений, также включающих двух- и одноцепочечные разрывы и окисленные основания в пределах 1-2 витков спирали ДНК. Локализация AP-сайтов в кластерных повреждениях может затруднять их репарацию или приводить к формированию двухцепочечных разрывов ДНК, токсичных которых для клеток наиболее высока. Репарация AP-сайтов в контексте кластерных повреждений в настоящее время недостаточно изучена, и ее исследование представляет большой интерес, поскольку вероятно участие в этих процессах особых белков.

Остатки дезоксирибозы в составе AP-сайтов находятся в равновесии между циклической (фуранозной) и ациклической (альдегидной) формами. Альдегидная форма AP-сайта может образовывать интермедиат с аминокетонами белка — основание Шиффа. Формирование основания Шиффа — процесс обратимый, но интермедиат может быть стабилизирован при восстановлении боргидридом натрия. Получающийся ковалентный аддукт белок-ДНК стабилен в условиях последующего анализа. Сшивку белков с ДНК, содержащей AP-сайты, в комбинации с последующим масс спектрометрическим анализом можно применять для целенаправленного поиска и идентификации неизвестных белков, взаимодействующих с такими или другими повреждениями в ДНК определенной структуры.

Используя подобный подход, Косова А. А. продемонстрировала образование специфических аддуктов AP-ДНК, содержащей одноцепочечные выступающие участки, с белками экстрактов клеток человека. Анализ белков в составе ковалентных аддуктов

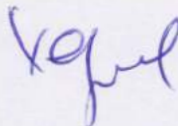
белок-ДНК привел к идентификации Ku80 субъединицы Ku-антигена и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы GAPDH. Последующие эксперименты с использованием AP-ДНК и указанных белков, выделенных в индивидуальном состоянии из культивируемых клеток человека, позволили установить ряд новых и интересных особенностей обнаруженного взаимодействия. В частности, было впервые показано, что Ku-антиген способен расщеплять AP-сайты, находящиеся в двухцепочечной части ДНК далеко от ее концов, хотя для этого ДНК должна содержать на концах одноцепочечные участки определенной длины. Следует отметить, что ранее AP-лиазная активность Ku-антигена была обнаружена только в отношении AP-сайтов, расположенных в непосредственной близости к концам ДНК-дуплексов. Продемонстрированная Косовой А. А. возможность репарации AP-сайтов в реконструированной системе, иницируемая Ku-антигеном, расширяет представление о функциях данного белка в репарации ДНК.

В данной работе также впервые обнаружена способность гликолитического фермента GAPDH взаимодействовать с AP-сайтами. В частности, продемонстрировано образование боргидрид-независимых устойчивых сшивок этого белка с AP-ДНК. Такой тип взаимодействия может вносить вклад в известную токсичность нерепарированных AP-сайтов. Ранее уже было показано, что GAPDH является многофункциональным белком и может перемещаться в ядро и взаимодействовать с интактной и поврежденной ДНК и некоторыми ферментами репарации.

Автореферат написан хорошим научным языком и качественно проиллюстрирован. Выводы автореферата обоснованы и соответствуют поставленным целям и задачам исследования. По результатам работы опубликовано 5 научных статей в отечественных и зарубежных журналах, что говорит о высокой оценке работы Косовой А. А. научным сообществом.

Учитывая вышесказанное, работа Косовой А. А. является завершенным научно-квалификационным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне. Результаты данной работы представляют несомненный интерес как для академических, так и для отраслевых лабораторий молекулярно-биологического и биохимического профиля, и могут найти применение в решении биомедицинских задач. Диссертационная работа Косовой А. А. соответствует требованиям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 (в редакции №335 от 21.04.2016), а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Заведующий лабораторией репарации ДНК и нейродегенеративных заболеваний  
Биохимического факультета Кембриджского университета,  
доктор химических наук



С.В. Хороненкова

24 марта 2018 года

Название организации: Биохимический факультет, Кембриджский университет  
Официальный адрес: CB2 1GA, Великобритания, Кембридж, Теннис Корт, 80 (80 Tennis Court Road, Cambridge CB2 1GA, UK)

Телефон: +44 (1223) 761449

E mail: sk870@cam.ac.uk