

LABORATOIRE STABILITE GENETIQUE ET ONCOGENESE (UMR 8200 CNRS)

Отзыв

на автореферат диссертации Кузнецова Никиты Александровича «МОЛЕКУЛЯРНО-КИНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УЗНАВАНИЯ И УДАЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В ПРОЦЕССЕ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 03.01.04-биохимия.

Актуальность исследования. Репарация повреждений ДНК специфическими ферментами является одним из основных биохимических процессов, обеспечивающих жизнедеятельность клетки и сохранение вида. Одной из наиболее важных систем репарации ДНК является система эксцизионной репарации оснований (ЭРО), которая исправляет наиболее частые и многочисленные повреждения ДНК. Данные повреждения возникают в результате действия на организм активных форм кислорода (окислительного стресса), алкилирующих агентов, ионизирующей радиации и других эндогенных и экзогенных факторов, являются наиболее важными причинами мутаций и могут играть решающую роль в процессах старения и возникновении раковых заболеваний. В связи с этим детальное физико-химическое исследование механизмов взаимодействия ДНК-гликозилаз и AP-эндонуклеаз, инициирующих ЭРО, с поврежденной ДНК является очень актуальным и необходимым для более глубокого понимания защитных механизмов выработанных в ходе эволюции для сохранения генетической информации и жизнеспособности клетки.

Научная новизна и практическая ценность работы. Кузнецов Н. А. разработал оригинальную методику изучения предстационарной кинетики и конформационных превращений в ходе ферментативных реакций, используя методы прерывания реакции («quench-flow») и остановленной струи («stopped-flow»), в сочетании с мутационным анализом и постадийным усложнением структуры специфического сайта. Для основной AP-эндонуклеазы человека (APE1), трёх ДНК-гликозилаз человека и четырёх ДНК-гликозилаз *E. coli*, принадлежащих к разным структурным семействам, были установлены детальные молекулярно-кинетические механизмы узнавания специфических

сайтов в ДНК, образования каталитически компетентных комплексов и протекания химических стадий реакции. Проведенное систематическое исследование внесло значительный вклад в понимание механизмов специфического узнавания и выщепления повреждений из ДНК, определены ключевые стадии этих процессов и структурные элементы ферментов и ДНК лигандов принимающие в этом определяющее участие. Кроме того, был разработан оригинальный метод для определения активности AP-эндонуклеаз, который может быть использован для высокоэффективного поиска ингибиторов ферментов репарации ДНК. Несомненно, представленное исследование имеет большое значение как для практических целей, так и для понимания общих закономерностей функционирования ферментов репарации в живых организмах.

Достоверность результатов и обоснованность выводов. Выводы работы соответствуют полученным данным, достоверность которых не вызывает сомнений. Основные положения работы были опубликованы в высокоцитируемых международных журналах.

Заключение. Работа Кузнецова Н. А. является завершенным оригинальным трудом, открывающим новые возможности в развитии теории и методологии исследований ферментов, взаимодействующих с протяженными молекулами ДНК- и РНК, а также сиквенс-специфическими ферментами. Результаты работы могут быть использованы в очень большом числе институтов биохимического, молекулярно-биологического, биологического и медицинского профиля как в России, так и за рубежом.

Работа по своему объему и значимости результатов несомненно соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора химических наук и ее автор, несомненно заслуживает присуждения степени доктора химических наук по специальности 03.01.04-биохимия.

Соруководитель лаборатории Репарации ДНК в UMR8200 CNRS, Вильжуиф, Франция

Директор исследований в Национальном центре научных исследований Франции (DR2 CNRS)

К.б.н. с хабилитацией (HDR)

Ищенко Александр Анатольевич

12.03.2018