

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Кургиной Татьяны Андреевны
«Влияние фактора модификации гистонов HPF1 на активность
поли(ADP-рибоза)полимераз 1 и 2 при взаимодействии с нуклеосомами»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.3. – «Молекулярная биология»

Диссертационная работа Кургиной Татьяны Андреевны посвящена роли фактора модификации гистонов HPF1 в активации поли(ADP-рибоза)полимераз PARP1 и PARP2. Данные ферменты являются значимыми мишенями в терапии ряда заболеваний, прежде всего – онкологических. Наряду с другими белками системы ответа на двухцепочечные разрывы ДНК и системы эксцизионной репарации оснований PARP обеспечивают адаптацию раковых клеток к стресс-факторам, включая повреждающие ДНК химиотерапевтические агенты. Для раковых клеток в целом характерно снижение функции отдельных компонентов системы репарации. На этом фоне ингибирование PARP способствует летальному накоплению повреждений ДНК, что легло в основу одного из современных подходов к онкотерапии.

Рациональное использование ингибиторов PARP требует учета их эндогенных конкурентов и прочих модуляторов активности фермента, в частности HPF1. Не исключено, что HPF1 целесообразно включать в модельные системы для экспресс-скрининга/предварительного тестирования ингибиторов PARP *in vitro*. Этому должно предшествовать уточнение механизма влияния данного белка на активность PARP. Несмотря на прогресс в исследованиях, эффекты HPF1 при взаимодействии PARP с нуклеосомами оставались слабо изучены до недавнего времени. Работа Татьяны Андреевны внесла существенный вклад в развитие направления, а результаты зарубежных исследователей, опубликованные уже после написания диссертации, подтвердили ее ключевые выводы.

Таким образом, **актуальность темы диссертации** Татьяны Андреевны определяется растущим интересом к регуляции активности PARP1/2 и перспективами применения ингибиторов PARP в терапии. **Практическая значимость результатов** проявится в долгосрочной перспективе: учет эффектов HPF1 позволит адекватно спрогнозировать действие ингибиторов PARP, подобрать их оптимальные сочетания с химиотерапевтическими препаратами или схемы комбинирования с лучевой терапией. Кроме того, уточнение механизмов активации PARP может способствовать выявлению дополнительных мишеней и созданию следующего поколения препаратов для преодоления резистентности некоторых опухолей к доступным ингибиторам PARP.

Научная значимость работы не вызывает сомнений. Влияние нуклеосомной укладки на скорость и эффективность репарации ДНК активно изучаются последние десятилетия. В общем случае ожидается затруднение репарации в сравнении со свободной ДНК, однако, как показано в том числе в диссертации Татьяны Андреевны, эффект определяется положением повреждения в пределах сайта позиционирования нуклеосомы или вблизи сайта. Реализуется и обратная причинно-следственная связь: повреждения ДНК инициируют модификацию гистонов (в данном случае PAR-илирование), что может служить сигналом к ремоделированию хроматина. Прояснение этой взаимосвязи представляет фундаментальной задачей, в рамках которой Татьяна Андреевна раскрыла ключевые аспекты HPF1-зависимой модификации гистонов при активации PARP поврежденной нуклеосомной ДНК.

Стоит отметить, что Татьяна Андреевна уделила большое внимание различиям PARP1 и PARP2 и убедительно продемонстрировала специфическую роль последней в контексте хроматина. На примере нескольких модельных конструкций с нуклеосомой она показала, что двухцепочечные разрывы распознаются преимущественно PARP1, тогда как PARP2 чувствительна к интермедиату эксцизионной репарации (бреши в ДНК). Активация PARP1 приводит, главным образом, к авто-PAR-илированию, тогда как PARP2 в присутствии HPF1 PAR-илирует гистоны, причем паттерн этой модификации зависит от положения повреждения ДНК (бреши).

Возможно, наиболее интригующие результаты были получены в ходе анализа влияния HPF1 на начальные скорости и общую процессивность синтеза PAR обоими ферментами. Татьяна Андреевна установила, что HPF1 стимулирует инициацию, но подавляет элонгацию PAR-илирования. Для объяснения данного факта была предложена общая модель, согласно которой HPF1 образует комплекс с PARP на поврежденной ДНК/нуклеосоме, формируя гибридный активный центр с измененной специфичностью и способствуя инициации PAR-илирования, а затем диссоциирует и вступает в новый раунд инициации. Модель можно взять за основу вероятного механизма действия HPF1. Она отличается **новизной**, элегантно и непротиворечиво обобщает итоги работы, делает ее законченным и цельным исследованием.

В методическом плане работа выполнена на высоком уровне. Татьяна Андреевна опиралась на классические проверенные методы молекулярной биологии и физической химии (спектральные, электрофоретические и др.). В то же время, для отслеживания влияния повреждений ДНК на связывание и активацию PARP она разработала оригинальную методику и получила набор оригинальных меченых конструкций. В автореферате эта часть описана достаточно подробно, и приведены экспериментальные данные, подтверждающие основные положения, выносимые на защиту. Работа четко спланирована и добросовестно выполнена. Материал изложен логично, последовательно и грамотно, соответствует содержанию диссертации, хорошо проиллюстрирован. По существу работы и обоснованию выводов замечаний нет. Незначительные помарки оформления не снижают ценности работы.

Работа Кургиной Т.А. соответствует требованиям, установленным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации Кургина Т.А. заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. - молекулярная биология.

Я, Варижук Анна Михайловна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой Кургиной Татьяны Андреевны.

Варижук Анна Михайловна,
д.х.н., заведующая лабораторией
структуры и функций биополимеров
ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

Подпись Варижук А.М. удостоверяю:
Лихнова Ольга Петровна,
к.б.н., ученый секретарь
ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России



26.10.23