

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу
Науменко Натальи Вильевны «Закономерности процесса удаления объемных
аддуктов из кластерных повреждений ДНК системой NER млекопитающих»,
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия**

Основные научные результаты и их актуальность. Диссертационная работа Науменко Натальи Вильевны посвящена исследованию процесса репарации кластерных повреждений ДНК системой NER (эксцизионной репарации нуклеотидов). Кластерные повреждения ДНК часто бывают устойчивыми к удалению системами репарации ДНК и, таким образом, оказывают на клетку более существенные мутагенные и токсические эффекты, чем другие типы повреждений. Однако наиболее хорошо изученными являются процессы репарации одиночно расположенных повреждений ДНК, в то время как механизмы удаления кластерных повреждений ДНК различного состава остаются неизученными. В современной литературе встречаются отдельные работы, посвященные исследованию репарации кластерных повреждений ДНК в процессе NER, однако остается очень много открытых вопросов о роли конкретных ферментов и их комплексов в этом процессе. В связи с этим настоящая работа представляется весьма актуальным исследованием.

Название диссертационной работы достаточно точно отражает ее содержание. Речь идет о решении задач, связанных с расширением знаний о процессе репарации объемных аддуктов, расположенных в составе кластерных повреждений ДНК, системой NER в клетках млекопитающих. Сильной стороной работы является многообразие актуальных биохимических и молекулярно-биологических методов и подходов, включая использование модельных ДНК-субстратов системы NER, разработанных в лаборатории.

Общая оценка работы. Диссертация Науменко Н.В. изложена на 127 страницах, содержит 29 рисунков, 13 таблиц и одно приложение. Текст выстроен по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, списка цитированной литературы и приложения. Библиография включает 297 литературных источников.

Во введении автором сформулированы цели и задачи диссертационной работы, обоснована ее научная новизна, актуальность и теоретическая и практическая значимость.

Обзор литературы представлен в виде трех частей: в первой его части приведена информация по субстратной специфичности системы NER и подробно описан механизм

удаления повреждения ДНК данной системой репарации. Во второй части обзора описана альтернативная система – эксцизионной репарации оснований эукариот, а в третьей – собрана и проанализирована информация про кластерные повреждения ДНК: рассмотрены факторы и условия, способствующие образованию кластерных повреждений ДНК, оценена вероятность появления в ДНК таких структур, а также обобщены данные по механизму их репарации системой NER млекопитающих. Обзор написан очень грамотно и хорошо структурирован. В нем практически не встречается опечаток и жаргонизмов.

В разделе «экспериментальная часть» детально описано получение модельных ДНК и препаратов NER-компетентных экстрактов, использованных в работе, а также молекулярно-биологические и биохимические методики, использованные при проведении экспериментов.

Глава «результаты и обсуждения» разбита на три смысловые части. В первой части работы проведен систематический анализ свойств ДНК, содержащих объемные повреждения, расположенные в обеих цепях дуплекса на небольшом удалении друг от друга. Впервые продемонстрировано, что двухцепочечные кластерные повреждения ДНК, состоящие из нескольких объемных повреждений, представляют собой нерепарируемые или сложнорепарируемые системой NER структуры. При этом сродство сенсорного фактора XPC-RAD23B к таким кластерным повреждениям повышено. Потенциально это может приводить к привлечению молекул фактора XPC-RAD23B в состав непродуктивных для NER комплексов, и, таким образом, к снижению эффективности репарации ДНК в клетке.

Во второй части работы проведен анализ влияния AP-сайта, расположенного в различных положениях комплементарной цепи ДНК-дуплекса, на эффективность репарации модельного объемного нуклеотидного повреждения (nFlu). Автором предложена модель, объясняющая подавленную эксцизию повреждения nFlu из состава кластерного повреждения с AP-сайтом системой NER специфической топологией поврежденного участка ДНК, которая препятствует его узнаванию фактором XPC. Тем самым, автором работы существенно дополнены данные о механизме репарации кластерных повреждений ДНК, а также об их потенциальной биологической значимости в клетках млекопитающих.

В третьей части главы «результаты и обсуждения» исследовано взаимодействие рекомбинантных белков термофильного гриба *Chaetomium thermophilum* – субъединиц XPD и p44, входящих в состав комплекса TFIIH, осуществляющего стадию верификации повреждения ДНК в процессе NER. Подтверждена способность белка XPD *Chaetomium thermophilum* селективно взаимодействовать с репарируемыми и нерепарируемыми

системой NER объемными повреждениями ДНК. Таким образом, на примере ряда модельных повреждений показано, что эффективность эксцизии объемного повреждения из ДНК системой NER может зависеть от эффективности прохождения стадии его верификации. Понимание структурных различий между репарируемыми и нерепарируемыми повреждениями ДНК важно для разработки более мощных химиотерапевтических препаратов, устойчивых к удалению системой NER.

Работа выполнена на высоком научном и экспериментальном уровне, ее результаты имеют несомненное фундаментальное значение, а выводы обоснованы и соответствуют результатам. Достоверность и научная новизна диссертационной работы подтверждается публикациями в четырех статьях зарубежных и отечественных рецензируемых журналов. В трех работах соискатель является первым автором, включая статью в журнале «DNA repair» (IF=4,46). Кроме того, материалы исследования были представлены на 14 научных конференциях.

Автореферат достаточно полно отражает объем и содержание работы. Диссертация и автореферат написаны грамотно и логично, практически не содержат ошибок и опечаток.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Все представленные данные получены впервые, опубликованы в научных журналах и представлены на отечественных и международных конференциях. Изучение процессов репарации ДНК представляет интерес, с одной стороны, из-за их роли в поддержании стабильности генома и процессе старения, а с другой стороны – в контексте влияния активности систем репарации в клетке на эффективность воздействия на нее химиотерапевтических агентов. Совокупность полученных в диссертационной работе данных имеет потенциал применения для разработки новых эффективных подходов в онкотерапии, направленных на повреждение ДНК раковых клеток.

Замечания по содержанию работы. В Таблице 1 следовало бы уточнить, количество повреждений клеток каких именно организмов описывается. Размер генома сильно отличается у разных видов эукариот, поэтому эти цифры не могут отражать ситуацию во всем таксоне.

В материалах и методах было бы уместно описать, ферменты из какого организма (комплекса XPC-RAD23B, ДНК-полимеразы β , APE1) были использованы в работе.

Не хватает обоснования по выбору белкового комплекта XPD-p44 термофильного гриба, ведь в названии работы фигурирует исследование ферментативных комплексов млекопитающих.

Следует заметить, что выявленные недостатки не умаляют научно-практической значимости диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Науменко Натальи Вильевны, представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – «биохимия», выполнена на современном уровне и соответствует паспорту специальности. Данная научно-квалификационная работа является завершённым исследованием, которое по научной новизне, актуальности и значимости результатов отвечает критериям, установленным пп. 2.1-2.5 Положения о порядке присуждения ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Диссертация оформлена согласно Приложениям № 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Таким образом, Науменко Наталья Вильевна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Заведующий лабораторией сравнительной геномики
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Доктор биологических наук

Трифонов Владимир Александрович

Подпись д.б.н. В.А. Трифонова заверяю

Ученый секретарь ИМКБ СО РАН, к.б.н.



Л. Г. Ахмерова

25.11.2021

Специальность, по которой официальным оппонентом была защищена диссертация:
03.01.07 – молекулярная генетика.

Адрес места работы:

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Пр. Ак. Лаврентьева, 8/2

630090, г. Новосибирск

Тел: 8 (383)3639078 <http://www.mcb.nsc.ru> E-mail: vlad@mcb.nsc.ru