

ОТЗЫВ

на диссертационную работу **Речкуновой Надежды Ивановны**
«Механизмы репарации объемных и множественных повреждений ДНК»,
представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности
1.5.4 – биохимия

Диссертационная работа Речкуновой Н.И. посвящена исследованию одного из ключевых механизмов поддержания целостности геномов – репарации ДНК. Целью работы было установление механизма эксцизионной репарации нуклеотидов (NER), отвечающего за удаление из ДНК объемных повреждений, а также его кооперации с другими системами клеточного ответа на повреждение ДНК. Абсолютно необходимые для сохранения генетической информации в нормальной клетке, системы репарации играют негативную роль в онкотрансформированных клетках, снижая эффективность терапии с помощью ДНК-повреждающих препаратов. Понимание механизмов репарации ДНК и их регуляции может быть полезно для направленного подавления этих процессов в раковых клетках с целью усиления действия ДНК-повреждающих агентов. В работе рассматривается регуляторная роль в системе NER ключевого белка, вовлеченного в клеточный ответ на повреждение ДНК – поли-(ADP-рибоза)-полимеразы 1 (PARP1). Таким образом, актуальность темы исследования, не вызывает сомнений.

В первой части работы, посвященной исследованию механизма NER, автором подробно проанализированы взаимодействия белковых факторов этой системы репарации с поврежденными ДНК, моделирующими интермедиаты различных стадий процесса, с использованием традиционных биохимических методов, таких как метод «задержки в геле», фотоаффинная модификация, нуклеазный футпринтинг, флуоресцентное титрование. В результате анализа установлены характерные особенности формирования комплекса белков на поврежденной ДНК на определенных стадиях процесса репарации. Показано, что на начальном этапе процесса факторы, первыми узнающие поврежденную ДНК, взаимодействуют преимущественно с неповрежденной цепью, что обеспечивает широкую субстратную специфичность системы NER. Закономерности расположения белка на поврежденной ДНК сохраняются при переходе от дрожжей к высшим эукариотам. На стадии формирования предрасцепляющего комплекса участвующие в процессе белки ХРА и RPA взаимодействуют со специфическими элементами частично раскрытого ДНК-дуплекса – интермедиата этой стадии. Выявленные взаимодействия этих белков позволили автору предположить их ключевую роль в формировании не только предрасцепляющего комплекса, но и участие в последующих стадиях.

Следующей задачей данной работы было изучение роли в процессе NER одного из ключевых белков-регуляторов клеточного ответа на повреждение ДНК в условиях генотоксического стресса – поли(АДФ-рибоза)полимеразы 1 (PARP1). В работе впервые получены прямые свидетельства того, что субъединицы гетеродимера XPC-RAD23B, первым узнающего повреждение в ДНК в процессе общегеномной NER, являются мишенями PARP1 в ответ на повреждение ДНК УФ-светом. Кроме того, обнаружено влияние факторов NER на активность PARP1, особенно заметное в случае RPA, для которого наблюдается зависимость эффекта от структуры ДНК-активатора PARP1.

Значительный интерес, на мой взгляд, представляет заключительная глава диссертации, в которой автор рассматривает механизм репарации сложных повреждений ДНК, включающих как объемные повреждения, репарируемые комплексом NER, так и повреждения, исправляемые по механизму репарации оснований. В качестве примера таких повреждений выбраны ДНК-аддукты, образуемые реакционноспособными метаболитами бенз(*a*)пирена (BP) – одного из известных канцерогенов, а также широко представленные в клетке апуриновые/апиримидиновые (AP) сайты. Речкуновой Н.И. проведено комплексное исследование репарации AP-сайтов в составе кластеров с производными BP, выявлены структурные особенности комплексов основных ферментов репарации оснований с поврежденной ДНК, определяющие особенности репарации AP-сайтов в зависимости от положения и конформации объемного аддукта.

Представленная диссертация является итогом кропотливых исследований, проведенных с использованием традиционных и современных методов. Работа выполнена на высоком профессиональном уровне, научная новизна, актуальность и основные выводы работы не вызывают сомнений. Результаты работы опубликованы в 33 статьях в рецензируемых международных и российских изданиях, а также доложены на многих международных конференциях. Диссертация в виде научного доклада хорошо написана и иллюстрирована. Несмотря на ограниченный объем рукописи, каждую часть работы предваряет небольшое введение, объясняющее суть решаемой проблемы, и включает краткий вывод.

В общем, работа Речкуновой Н.И. выглядит как цельное завершённое исследование. Выводы обоснованы и подтверждены приведенными результатами исследований. Диссертационная работа в виде научного доклада оформлена в соответствии с Приложениями 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Представленная работа удовлетворяет требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте

химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а ее автор, Речкунова Надежда Ивановна, заслуживает присуждения степени доктора химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Заведующий лабораторией
химии протеолитических ферментов
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

чл.-корр. РАН, д.х.н.

Смирнов Иван Витальевич

Почтовый адрес: 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10к1.
E-mail: smirnov@ibch.ru

Подпись *Смирнова И.В.* удостоверяю

Ученый секретарь

/ Олейников Владимир Александрович

ФГБУН Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

доктор физ.-мат.наук

