

ОТЗЫВ

официального оппонента 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

Актуальность исследования

Системы репарации ДНК играют важнейшую роль в поддержании целостности генома. Эти системы включают большое количество белков-участников, осуществляющих сложные взаимосвязанные процессы, позволяющие эффективно устранять разнообразные повреждения ДНК. Детальное изучение механизмов протекающих репарационных процессов дает важнейшую информацию, необходимую как для глубокого понимания процессов репарации, так и для выявления возможных мишеней для направленного воздействия на эти системы. В этой связи, тема диссертации Речкуновой Надежды Ивановны, безусловно, является важной и актуальной.

Общая характеристика и содержание диссертации

Диссертация Речкуновой Н.И. представлена в виде научного доклада и изложена на 44 страницах. Она состоит из вводной части («Общая характеристика работы»), раздела «Результаты исследования и их обсуждение», «Заключения», «Выводов» и «Списка публикаций по теме диссертации». Работа иллюстрирована 28 рисунками и включает 7 таблиц.

Во вводной части автор дает краткий обзор состояния дел в области исследований на момент начала работ, исходя из которого и осуществлена постановка цели работы и определены основные задачи исследования.

Результаты работы и их обсуждение разделены на шесть глав. В первой главе продемонстрировано, что фотореакционноспособные арилазидозамещенные аналоги нуклеотидов распознаются и удаляются системой эксцизионной репарации нуклеотидов (NER) с эффективностью, достаточной для использования их при изучении механизмов функционирования этой системы. Во второй и третьей главах с использованием введенных в структуру модельных ДНК фотореакционноспособных арилазидозамещенных аналогов нуклеотидов продемонстрировано, что гетеродимерный белок ХРС-RAD23В, ответственный за обнаружение повреждений ДНК системой NER,

взаимодействует преимущественно с неповрежденной цепью ДНК-дуплекса возле места повреждения, причем сродство белка к модельным ДНК напрямую зависит от степени изгиба ДНК и, соответственно, от степени нарушения структуры ДНК. Большой объем исследований, направленных на изучение роли белков ХРА и РРА, важных белков системы NER, в репарации ДНК, представлен в главе 4. Показано, что эти белки не только по-разному локализуются на ДНК-интермедиатах на стадии предрасщепляющего комплекса, но и могут участвовать в последующих стадиях репарации. Результаты изучения сложного взаимного модулирования активности белков ХРА и РРА, с одной стороны, и PARP1, с другой, представлены в пятой главе. Наконец, в шестой главе приведены данные о репарации апуринowych/апириимидиновых сайтов напротив объемных ДНК аддуктов, содержащих фрагменты производных бенз[а]пиренов, ферментами, входящими в систему BER (эксцизионная репарация оснований). Показано, что различные ДНК-полимеразы демонстрируют разную эффективность и специфичность в репарационном синтезе ДНК в зависимости от расположения и строения объемного заместителя. Заключение и выводы обобщают полученные результаты и полностью подтверждаются приведенными данными.

Научная новизна и значимость результатов связаны с получением новой важной информации о механизмах репарации объемных и множественных повреждений ДНК с вовлечением белков двух ключевых систем репарации, NER и BER. Полученные данные существенно углубляют наше понимание процессов, протекающих на разных стадиях репарации повреждений ДНК, и могут быть полезны для установления путей взаимодействия систем NER и BER и развития новых подходов фармакологического воздействия на эти системы, например, в комплексной терапии раковых заболеваний.

Достоверность и обоснованность результатов

Достоверность результатов обусловлена применением релевантных современных методов исследования и не вызывает сомнений. Выводы обоснованы и полностью основаны на полученных данных. Результаты исследований опубликованы в 33 статьях в различных международных и российских изданиях, включая такие авторитетные журналы, как Nucleic Acids Research, Journal of Biological Chemistry, DNA Repair, Biochemistry и другие, что подтверждает их высокую научную значимость и достоверность. Признанием существенного вклада соискателя в исследуемую область является и представление результатов на престижных международных и отечественных форумах.

Публикации полностью отражают основное содержание диссертации. Диссертация хорошо написана, легко читается и практически не содержит опечаток.

Замечания

Хотя работа лишена принципиальных недостатков, тем не менее, по ней могут быть сделаны следующие замечания и комментарии:

1. На рис. 10 для большей наглядности следовало отразить и использованную концентрацию ДНК. Кроме того, рис. 10 содержит практически не обсуждаемую в тексте информацию, касающуюся влияния соотношения РРА/ХРА на образование комплексов. На рис. 11 стоило привести количественные данные об использованных соотношениях ХРА/ДНК, а не только качественную картинку.
2. Рис. 13г, подпись на оси ординат. Очевидно, допущена опечатка, вряд ли речь идет об 1% как о максимальном проценте ДНК в комплексе белок-ДНК.
3. Раздел 6.2. «Для более точной оценки влияния ионов Mg^{2+} и Mn^{2+} на активность $Pol\alpha$ и $Pol\beta$ в реакции синтеза ДНК». В чем состояла необходимость этой оценки? Насколько использованные концентрации ионов металлов являются физиологически достижимыми?
4. Раздел 6.3. В этом разделе стоило привести количественные данные, подтверждающие заключения об «эффективности и точности».
5. Учитывая, что диссертация представлена в виде научного доклада, для облегчения полноценного анализа работы было бы удобно, если бы в тексте были бы приведены ссылки на соответствующие статьи соискателя, благо в конце работы есть их пронумерованный список.

Видно, что все приведенные выше замечания носят технический или дискуссионный характер и не затрагивают существа работы.

Заключение

В целом, представленная на соискание ученой степени доктора химических наук диссертация Речкуновой Надежды Ивановны выполнена на высоком научном уровне и является завершенной научно-квалификационной работой, совокупность результатов которой может быть охарактеризована как существенный вклад в такую важную область биоорганической химии, как изучение механизмов репарации поврежденной ДНК.

Диссертационная работа Речкуновой Н.И., в которой решена важная научная задача по установлению детальных механизмов исправления объемных и множественных

повреждений ДНК, полностью соответствует требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. 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. Таким образом, Речкунова Надежда Ивановна заслуживает присуждения искомой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, доктор химических наук, профессор РАН, E-mail: volcho@nioch.nsc.ru; тел. +7 (383) 3308870

Волчо Константин Петрович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 9, Новосибирский институт органической химии СО РАН

Контактный телефон НИОХ СО РАН: (383)330-88-50; факс (383)330-97-52; E-mail: benzol@nioch.nsc.ru; адрес официального сайта: <http://web.nioch.nsc.ru/nioch/>

Подпись Волчо К.П. заверяю:

Ученый секретарь НИОХ СО РАН,

кандидат химических наук

12.09.2022



Бредихин Роман Андреевич