

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Яковлева Данилы Алексеевича «Конформационная динамика урацил-ДНК-гликозилаз человека SMUG1 и MBD4 в процессе взаимодействия с ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. - биохимия

Диссертационная работа Яковлева Данилы Алексеевича посвящена изучению динамики урацил-ДНК-гликозилаз человека SMUG1 и MBD4 при взаимодействии с ДНК. В работе сформулирована цель: установить кинетические механизмы конформационных переходов в молекулах фермента и ДНК в процессах, катализируемых урацил-ДНК-гликозилазами человека MBD4 и SMUG1, и выявить общие закономерности процессов образования каталитически активных комплексов ферментами, принадлежащими к разным структурным семействам.

Для достижения поставленной цели автор изучил кинетику и конформационные изменения ферментов MBD4 и SMUG1 в процессе их взаимодействия. Для наблюдения за быстрым изменением конформации ферментов и субстратов реальном времени использовался метод «остановленного потока» с регистрацией уровня флуоресценции реакционной смеси. С помощью методов моделирования и молекулярной динамики автор получил структуры комплексов SMUG1 и MBD4 дикого типа и их мутантных форм с ДНК и установил роль мутантных аминокислотных остатков в процессах специфического узнавания повреждения ДНК.

Основная часть работы посвящена изучению кинетических параметров конформационных переходов при взаимодействии урацил-ДНК-гликозилаз и их мутантных форм с субстратами и их модельными аналогами., что сделано очень убедительно. На основании проведенных экспериментов автор предложил кинетический механизм удаления поврежденных оснований ДНК, включающий неспецифическое взаимодействие с ДНК и поиск поврежденного основания, встраивание интеркалирующей петли фермента в ДНК-дуплекс, происходящее одновременно с локальным плавлением ДНК и «выворачиванием» поврежденного основания. Затем происходит формирование каталитически активного комплекса с образованием всех возможных контактов аминокислотных остатков фермента с ДНК и дефектным основанием и гидролиз N-гликозидной связи. Полученные результаты представлены кинетическими и равновесными константами, характеризующими взаимодействие ДНК-гликозилаз с ДНК и позволяют заключить, что выводы, сформулированные в работе, полностью обоснованы. Также можно утверждать, что данная работа не только улучшает понимание структурных механизмов

функционирования урацил-ДНК-гликозилаз, но и является свидетельством довольно широко распространенного механизма индуцированного соответствия, наблюдаемого при взаимодействии ферментов (белков) с ДНК.

По представленным в автореферате данным видно, что результаты работы опубликованы в рецензируемых журналах и представлены на российских и международных конференциях, т.е. работа прошла стадии представления и обсуждения.

По своему содержанию работа является целостной и логически завершенной. По уровню научных исследований и значимости работа полностью соответствует требованиям пп.9 Положения о присуждении ученых степеней, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. – биохимия.

Савинкова Людмила Кузьминична

630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10

Тел. 363- e-mail: [savinkl@mail.ru](mailto:savinkl@mail.ru)

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН

К.б.н. (специальность биохимия), в.н.с, зав. Сектором молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий.

