

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Монаховой Майи Викторовны
«Белки MutS и MutL: межмолекулярные взаимодействия на начальных
этапах репарации «мисматчей» в ДНК»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальности 1.4.9. Биоорганическая химия (химические науки)

Диссертационная работа Монаховой М.В. посвящена исследованию особенностей функционирования белков MutS и MutL, которые являются ключевыми участниками процесса репарации «мисматчей» в ДНК (mismatch repair, MMR). Система репарации «мисматчей» ДНК выполняет важную роль в поддержании целостности генома путем распознавания нарушений комплементарности оснований в структуре дуплекса ДНК, возникающие в процессе репликативного синтеза из-за «ошибок» ДНК-полимераз, и затем, восстановления исходной последовательности ДНК. Нарушение функционирования белков системы MMR приводит к накоплению в геноме однонуклеотидных замен и, как следствие, повышению генетической нестабильности и увеличению риска развития злокачественных новообразований и более быстрой прогрессии опухоли. Выявление особенностей функционирования системы репарации «мисматчей» ДНК необходимо для понимания молекулярных основ патогенеза злокачественных новообразований, что раскроет новые возможности как для профилактики, так и для лечения этого заболевания. Таким образом, актуальность темы диссертационного исследования Майи Викторовны Монаховой не вызывает сомнений.

В ходе работы автором впервые получен белок MutL из бактерии *Rhodobacter sphaeroides*. Для бактерии *R. sphaeroides* характерна повышенная выживаемость в различных стрессовых условиях, что принято связывать с особенностями функционирования системы репарации «мисматчей». В исследовании продемонстрировано, что основные характеристики MutL *R. sphaeroides* (эндонуклеазная и АТФазная активности) близки к характеристикам MutL из *Neisseria gonorrhoeae*. Благодаря использованию в исследовании новых типов модифицированных ДНК для реакции с Cys белков, а именно, содержащих 2-пиридилдисульфидную группу, автору удалось уточнить ДНК-связывающий центр

MutL *Escherichia coli*, а также продемонстрировать, что консервативные остатки Cys, находящиеся в каталитическом центре фермента у белка MutL из *N. gonorrhoeae*, сближены с ДНК. Также с помощью ДНК с пиридилдисульфидной группой успешно получены функционально активные «сшитые» комплексы MutS–ДНК и показано, что MutS, зафиксированный ковалентной связью рядом с «мисматчем», способен взаимодействовать с MutL, что может свидетельствовать в пользу образования репарационных комплексов, при которых отсутствует «скольжение» белков по ДНК.

В исследовании впервые использованы ДНК, содержащие β-дикетогруппу при С2'-атоме углеводного фрагмента, в реакциях с белками MutS и MutL из *E. coli*. Несмотря на низкую эффективность реакции, автором убедительно продемонстрировано, что такие ДНК способны взаимодействовать с Arg белков. Кроме того, с помощью таких ДНК удалось впервые зафиксировать ковалентный комплекс MutL *Escherichia coli* с короткими 17-звенными ДНК.

В качестве ещё одного реагента на остатки Cys получены фрагменты ДНК, содержащие акриламидную группировку на линкерах различной длины при С5-атоме dU. В работе не только показана их эффективность в реакции с мутантными формами белка MutS *Escherichia coli*, но и продемонстрировано новое, ранее не показанное конформационное состояние фермента.

В целом, диссертационное исследование Монаховой Майи Викторовны производит очень хорошее впечатление законченного, четкого, хорошо продуманного и спланированного исследования, которое, благодаря использованию новых подходов в моделировании взаимодействий ДНК-белок, позволило получить интересные данные и сделать научно значимые выводы. Все выводы хорошо аргументированы и полностью соответствуют полученным в исследовании результатам. Работа выполнена на высоком методическом уровне, с использованием современных и адекватных подходов и методов анализа. Результаты исследования опубликованы в 7 статьях в рецензируемых научных журналах и представлены на российских и международных конференциях. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.9. Биоорганическая химия (химические науки) и критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете

имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Таким образом, соискатель Монахова Майя Викторовна заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия (химические науки).

Якубовская Марианна Геннадиевна
доктор медицинских наук,
Заведующая отделом химического канцерогенеза
ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Подпись дата

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 23

Подпись Якубовской М.Г. заверяю.

Гудкова Маргарита Владимировна
кандидат биологических наук
Ученый секретарь НИИ канцерогенеза
ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина»
Минздрава России,

Подпись печать