

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Монаховой М.В. «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.

Способность белков и нуклеиновых кислот существовать в различных конформациях является уникальной особенностью биополимеров. Ферментативные процессы с участием этих макромолекул, включающие стадии связывания субстратов и каталитические реакции, также сопровождаются конформационными перестройками. Существует прямая связь между конформационной динамикой взаимодействующих молекул и функциональной активностью и эффективностью действия ферментов. Поэтому для понимания механизмов фермент-субстратного взаимодействия необходимо проводить анализ конформационной динамики в процессе их взаимодействия.

В качестве объектов исследования конформационной динамики в процессах специфического узнавания субстрата в данной диссертационной работе использовали ферменты системы репарации неканонических пар нуклеотидов в ДНК (MMR), а именно ключевые белки этой системы: MutS и MutL. Известно, что удаление мисматчей системой репарации MMR снижает частоту мутаций при репликации в 100–1000 раз, а нарушение функционирования MMR приводит к накоплению мутаций и повышению риска развития онкологических заболеваний. В этой связи диссертационная работа Монаховой М.В., посвященная изучению механизма взаимодействия белков MutS и MutL с ДНК является актуальным научным исследованием, а обоснованность постановки задач, выполненных в ходе работы, не вызывает сомнений. Поскольку структуры MutS и MutL являются динамически подвижными и характеризуются разнообразием конформаций, что затрудняет исследование взаимодействия этих белков с молекулярными партнерами, в работе использовали оригинальный подход к изучению свойств таких конформационно подвижных белков и их комплексов с ДНК с помощью новых типов реакционноспособных ДНК-дуплексов.

Для выполнения исследования соискателем получены рекомбинантные препараты ферментов, изученных в работе, при этом белок MutL из организма *Rhodobacter sphaeroides* (rsMutL) клонирован и выделен впервые. Установлено, что rsMutL, как и его наиболее близкий с эволюционной точки зрения гомолог MutL из *Neisseria gonorrhoeae* (ngMutL), способен вносить одноцепочечный разрыв в плазмидную ДНК. В качестве референтных белков в работе использовали белки MutS и MutL из системы MMR *E. coli* (ecMutS и ecMutL). Таким образом, в работе проведено взаимодополняющее исследование белков из разных организмов. Кроме того, в данной работе впервые предложено использовать дикарбонильные производные олигонуклеотидов для модификации гуанидиновой группы остатков Arg в белках, взаимодействующих с ДНК. Также показана эффективность и региоспецифичность ДНК-дуплексов, содержащих акриламидную группу при C5-атоме dU для аффинной модификации остатков Cys мутантных форм ecMutS. С помощью этих ДНК-реагентов зафиксировано новое, ранее не описанное конформационное состояние ecMutS, в комплексе с ДНК.

Безусловно, сильной стороной диссертационной работы является сочетание генно-инженерных подходов по получению рекомбинантных белков и новых типов

реакционноспособных ДНК для аффинной модификации этих белков, что позволило получить данные о строении и функционировании комплексов MutS и MutL бактерий с ДНК. Представленные результаты позволяют приблизиться к пониманию принципов функционирования более сложной эукариотической системы MMR.

В качестве замечания следует отметить то, что в тексте автореферата встречаются опечатки и неточности, например, на рисунке 3 и в подписи к нему перепутаны местами панели б и в. Однако данные замечания не влияют на общее положительное впечатление от работы.

В целом диссертационная работа Монаховой М.В. является завершенным исследованием, в котором получены новые результаты в области биоорганической химии. Основные результаты диссертации опубликованы в семи международных и российских научных журналах, докладывались на международных и всероссийских конференциях. Указанные выше замечания не влияют на общую положительную оценку работы. Диссертация соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Монахова Майя Викторовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия.

Главный научный сотрудник
Лаборатории генетических технологий
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки «Институт
химической биологии и фундаментальной медицины»
Сибирского отделения Российской академии наук,
доктор химических наук

Кузнецов Н.А.

7 ноября 2023 г.

Почтовый адрес:
Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения
Российской академии наук, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8.