

Заключение диссертационного совета МГУ.014.2  
по диссертации на соискание ученой степени доктора наук

Решение диссертационного совета от 23 апреля 2024 г. № 15

О присуждении **Ковалю Владимиру Васильевичу**, гражданину РФ, ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «Динамическая пластичность ДНК-гликозилаз и эндонуклеаз в комплексах с ДНК: кинетические и структурные особенности» по специальностям 1.4.9. Биоорганическая химия и 1.5.3. Молекулярная биология принята к защите диссертационным советом 12 февраля 2024 г., протокол № 14.

Соискатель **Коваль Владимир Васильевич**, 1969 года рождения, диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук «Фотомодификация ДНК в составе дуплексов: кинетические и структурные особенности» по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия защитил в 2003 году в диссертационном совете, созданном на базе Новосибирского института биоорганической химии СО РАН (в настоящий момент – Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН).

Соискатель работает в должности исполняющего обязанности директора Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Диссертация выполнена в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Научный консультант – доктор химических наук, член-корреспондент РАН **Пышный Дмитрий Владимирович**, заместитель министра, Министерство науки и высшего образования Российской Федерации; главный научный сотрудник Лаборатории биомедицинской химии, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Официальные оппоненты:

**Зверева Мария Эмильевна**, доктор химических наук, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», химический факультет, заместитель декана по научной работе, кафедра химии природных соединений, профессор  
**Макаров Александр Александрович**, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта Российской академии наук, научный руководитель ИМБ РАН

**Попов Владимир Олегович**, доктор химических наук, профессор, академик РАН, ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», научный руководитель ФИЦ Биотехнологии РАН дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 112 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 27 работ, из них 26 статей, опубликованных, в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальностям 1.4.9. Биоорганическая химия и 1.5.3. Молекулярная биология и 1 патент, приравненный к публикации.

Публикации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus:

1. Zhdanova P.V., Chernonosov A.A., Zharkov D.O., Koval V.V., Ishchenko A.A. Dynamics and conformational changes in human NEIL2 DNA glycosylase analyzed by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry. *Journal of Molecular Biology* –2022. –V. 434. –N. 2. –P. 167334. Объем 1.72 печатного листа. Вклад автора 55 %. JIF=5.6
2. Zhdanova P.V., Chernonosov A.A., Prokhorova D.V., Stepanov G.A., Kanazhevskaya L.Y., Koval V.V. Probing the dynamics of streptococcus pyogenes Cas9 endonuclease bound to the sgRNA complex using hydrogen-deuterium exchange mass spectrometry. *International Journal of Molecular Sciences* –2022. –V. 23. –N. 3. –P. 1129. Объем 1.28 печатного листа. Вклад автора 55 %. JIF=5.6
3. Baranova S.V., Zhdanova P.V., Lomzov A.A., Koval V.V., Chernonosov A.A. Structure- and content-dependent efficiency of Cas9-assisted DNA cleavage in genome-editing systems. *International Journal of Molecular Sciences* –2022. –V. 23. –N. 22. –P. 13889. Объем 1.30 печатного листа. Вклад автора 60 %. JIF=5.6
4. Zhdanova P.V., Lomzov A.A., Prokhorova D.V., Stepanov G.A., Chernonosov A.A., Koval V.V. Thermodynamic swings: how ideal complex of Cas9-RNA/DNA forms. *International Journal of Molecular Sciences* –2022. –V. 23. –N. 16. –P. 8891. Объем 1.45 печатного листа. Вклад автора 55 %. JIF=5.6
5. Rechkunova N.I., Zhdanova P.V., Lebedeva N.A., Maltseva E.A., Koval V.V., Lavrik O.I. Structural features of DNA polymerases  $\beta$  and  $\lambda$  in complex with benzo[a]pyrene-adducted DNA cause a difference in lesion tolerance. *DNA Repair* –2022. –V. 116. –P. 103353. Объем 1.44 печатного листа. Вклад автора 35 %. JIF=3.8
6. Zhdanova P.V., Ishchenko A.A., Chernonosov A.A., Zharkov D.O., Koval V.V. Dataset for dynamics and conformational changes in human NEIL2 protein analyzed by

- integrative structural biology approach. *Data in Brief* –2022. –V. 40. –P. 107760. Объем 0.60 печатного листа. Вклад автора 55 %. SJR=1.2
7. Dyakonova E.S., Koval V.V., Lomzov A.A., Ishchenko A.A., Fedorova O.S. Apurinic/aprimidinic endonuclease Apn1 from *Saccharomyces cerevisiae* is recruited to the nucleotide incision repair pathway: kinetic and structural features. *Biochimie* – 2018. –V. 152. –P. 53-62. Объем 1.64 печатного листа. Вклад автора 40 %. JIF=3.9
  8. Dyakonova E.S., Koval V.V., Lomzov A.A., Ishchenko A.A., Fedorova O.S. Data on PAGE analysis and MD simulation for the interaction of endonuclease Apn1 from *Saccharomyces cerevisiae* with DNA substrates containing modified bases 5,6-dihydrouracil and 2-aminopurine. *Data in Brief* –2018. –V. 20. –P. 1515-1524. Объем 0.61 печатного листа. Вклад автора 40 %. SJR=1.2
  9. Starostenko L.V., Rechkunova N. I., Lebedeva N. A., Lomzov A.A., Koval V.V., Lavrik O.I. Processing of the abasic sites clustered with the benzo[a]pyrene adducts by the base excision repair enzymes. *DNA Repair* –2017. –V. 50. –P. 43-53. Объем 1.29 печатного листа. Вклад автора 35 %. JIF=3.8
  10. Lukina M. V., Koval V. V., Lomzov A. A., Zharkov D. O., Fedorova O. S. Global DNA dynamics of 8-oxoguanine repair by human OGG1 revealed by stopped-flow kinetics and molecular dynamic simulation. *Molecular BioSystems* –2017. –V. 13. –N. 10 –P. 1954–1966. Объем 1.78 печатного листа. Вклад автора 45 %. JIF=2.9
  11. Dyakonova, E.S., Koval, V.V., Lomzov, A.A., Ishchenko, A.A., Fedorova, O.S. The role of His-83 of yeast apurinic/aprimidinic endonuclease Apn1 in catalytic incision of abasic sites in DNA. *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects* –2015. –V. 1850. –N. 6 –P. 1297-1309. Объем 2.14 печатного листа. Вклад автора 40 %. JIF=3.0
  12. Koval V.V., Knorre D.G., Fedorova O.S. Structural features of the interaction between human 8-oxoguanine DNA glycosylase hOGG1 and DNA. *Acta Naturae* –2014. –V. 6. –N. 3 –P. 52-65. Объем 1.67 печатных листа. Вклад автора 65 %. JIF=2.0
  13. Kanazhevskaya L.Y., Koval V.V., Lomzov A.A., Fedorova O.S. The role of Asn-212 in the catalytic mechanism of human endonuclease APE1: Stopped-flow kinetic study of incision activity on a natural AP site and a tetrahydrofuran analogue. *DNA Repair* – 2014. –V. 21. –P. 43-54. Объем 1.81 печатного листа. Вклад автора 55 %. JIF=3.8

14. Lukina M.V., Popov A.V., Koval V.V., Vorobjev Y.N., Fedorova O.S., Zharkov D.O. DNA damage processing by human 8-oxoguanine-DNA glycosylase mutants with the occluded active site. *Journal of Biological Chemistry* –2013. –V. 288. –N. 40. –P. 28936–28947. Объем 1.53 печатного листа. Вклад автора 35 %. JIF=5.157
15. Kanazhevskaya L.Yu., Koval V.V., Vorobjev Yu.N., Fedorova O.S. Conformational dynamics of abasic DNA upon interactions with AP endonuclease 1 revealed by stopped-flow fluorescence analysis. *Biochemistry* –2012. –V. 51. –N. 6. –P. 1306-1321. Объем 2.25 печатного листа. Вклад автора 45 %. JIF=2.9
16. Dyakonova E.S., Koval V.V., Ishchenko A.A., Sapparbaev M.K., Kaptein R., Fedorova O.S. Kinetic mechanism of the interaction of *Saccharomyces cerevisiae* AP-endonuclease 1 with DNA substrates. *Biochemistry Moscow* –2012. –V. 77. –N. 10. –P. 1162–1171. Объем 1.04 печатного листа. Вклад автора 45 %. JIF=2.824
17. Timofeyeva N.A., Koval V.V., Ishchenko A.A., Sapparbaev M. K., Fedorova O.S. Kinetic mechanism of human apurinic/apyrimidinic endonuclease action in nucleotide incision repair. *Biochemistry Moscow* –2011. –V. 76. –N. 2 –P. 273–281. Объем 1.05 печатного листа. Вклад автора 40 %. JIF=2.824
18. Timofeyeva N.A., Koval V.V., Ishchenko A.A., Sapparbaev M.K., Fedorova O.S. Lys98 Substitution in human AP endonuclease 1 affects the kinetic mechanism of enzyme action in base excision and nucleotide incision repair pathways. *PLoS ONE* –2011. –V. 6. –P. e24063. Объем 1.43 печатного листа. Вклад автора 45 %. JIF=3.752
19. Lukzen N.N., Ivanov K.L., Koval V.V. Kinetic analysis of the search for damaged DNA bases by repair enzymes: theoretical investigation of diffusion-controlled steps. *Russian Chemical Bulletin, International Edition* 2011. –V. 60, –N. 12. –P. 2621—2624. Объем 0.36 печатного листа. Вклад автора 55 %. JIF=1.704
20. Kanazhevskaya L.Y., Koval V.V., Zharkov D.O., Strauss P.R., Fedorova O.S. Conformational transitions in human AP endonuclease 1 and its active site mutant during abasic site repair. *Biochemistry* – 2010. –V. 49. –N. 30. –P.6451-6461. Объем 1.67 печатного листа. Вклад автора 40 %. JIF=3.162
21. Timofeyeva N.A., Koval V.V., Knorre D.G., Zharkov D.O., Sapparbaev M K., Ishchenko A.A., Fedorova O.S. Conformational dynamics of human AP endonuclease in base excision and nucleotide incision repair pathways. *Journal of Biomolecular Structure and*

- Dynamics –2009. –V. 26. –P. 637-652. Объем 1.25 печатного листа. Вклад автора 45 %. JIF=5.235
22. Kuznetsov N.A., Koval V.V., Zharkov D.O., Nevinsky G.A., Douglas K.T., Fedorova O.S. Kinetic conformational analysis of human 8-oxoguanine-DNA glycosylase. *Journal of Biological Chemistry* –2007. –V. 282. –N. 2. –P. 1029–1038. Объем 1.38 печатного листа. Вклад автора 40 %. JIF=5.157
  23. Kuznetsov N.A., Koval V.V., Zharkov D.O., Vorobjev Yu.N., Nevinsky G.A., Douglas K.T., Fedorova O.S. Pre-steady-state kinetic study of substrate specificity of *Escherichia coli* formamidopyrimidine-DNA glycosylase. *Biochemistry* –2007. –V. 46. –N. 2. –P. 424-435. Объем 1.51 печатного листа. Вклад автора 45 %. JIF=2.9
  24. Kuznetsov N.A., Koval V.V., Zharkov D.O., Nevinsky G.A., Douglas K.T., Fedorova O.S. Kinetics of substrate recognition and cleavage by human 8-oxoguanine-DNA glycosylase. *Nucleic Acids Research* –2005. –V. 33. –N. 12. –P. 3919-3931. Объем 1.64 печатного листа. Вклад автора 55 %. JIF=14.9
  25. Koval V.V., Kuznetsov N.A., Zharkov D.O., Ishchenko A.A., Douglas K.T., Nevinsky G.A., Fedorova O.S. Pre-steady-state kinetics shows differences in processing of various DNA lesions by *Escherichia coli* formamidopyrimidine-DNA glycosylase. *Nucleic Acids Research* –2004. –V. 32. –N. 3 –P. 926-935. Объем 1.38 печатного листа. Вклад автора 60 %. JIF=14.9
  26. Fedorova O.S., Nevinsky G.A., Koval V.V., Ishchenko A.A., Vasilenko N.L., Douglas K.T. Stopped-flow kinetic studies of the interaction between *Escherichia coli* Fpg protein and DNA substrates. *Biochemistry* –2002. –V. 41. –N. 5. –P. 1520-1528. Объем 1.11 печатного листа. Вклад автора 60 %. JIF=2.9

Патент по теме диссертации:

1. Федорова О.С., Коваль В.В., Кузнецов Н.А. Способ определения активности 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы человека. Патент РФ № 2321637. Приоритет от 07.06.2006. Объем 0.44 печатного листа. Вклад автора 35 %.

На диссертацию и автореферат поступило 5 дополнительных отзывов, все отзывы положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что д.х.н М. Э. Зверева, д.б.н., профессор, академик РАН А. А. Макаров и д.х.н., профессор, академик РАН В. О. Попов являются известными учёными, признанными специалистами в области

биохимии, физико-химической биологии и молекулярной биологии. Д.х.н. М. Э. Зверева является специалистом мирового уровня в области биохимии белков и нуклеиновых кислот, автор более 90 научных публикаций, опубликованных в авторитетных международных журналах. Д.б.н., профессор, академик РАН А. А. Макаров – автор более 330 научных публикаций в области физико-химической биологии, биохимии, молекулярной биологии и энзимологии, опубликованных в авторитетных международных журналах. Д.х.н., профессор, академик РАН В. О. Попов опубликовал более 280 научных публикаций, в том числе по изучению белок-белковых и белково-нуклеиновых взаимодействий, получению 3D-структур белковых комплексов.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальных задач, имеющих существенное значение для изучения свойств ферментов репарации ДНК и ферментов геномного редактирования.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

- Взаимодействие ДНК-гликозилазы Fpg из *E. coli* с ДНК-субстратом, содержащими модифицированные 8-охоG нуклеотиды происходит в четыре элементарные стадии. Предложенные стадии процесса отражают связывание ДНК-субстрата с ферментом, узнавание повреждения с последующей корректировкой структуры ДНК и структуры молекулы фермента для достижения каталитически компетентной конформации. Стадия подстройки ДНК-дуплекса относительно медленная и за ней следуют быстрые стадии ферментативного катализа.
- Аминокислотный остаток Asn212 в hAPE1 выполняет ключевую роль в формировании нуклеофильной частицы, участвующей в процессе гидролиза фосфодиэфирной связи ДНК-субстрата. Введение в положение 212 белка остатка аланина вместо аспарагина существенно не влияет на сродство hAPE1 к ДНК-субстрату.
- В активном центре нуклеазы Atp1 из дрожжей остаток His83, координирующий ионы Zn<sup>2+</sup> в активном центре, играет решающую роль в каталитической стадии разрезания ДНК-субстрата.
- Белок hNEIL2 в свободном состоянии в растворе предпочтительно находится в открытой конформации. Характерная для позвоночных область NEIL2, содержащая протяженную

инсерцию в N-концевом домене и отсутствующая в других ДНК-гликозилазах, находится в растворе в неструктурированном состоянии.

На заседании 23 апреля 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Ковалю В. В. ученую степень доктора химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия и 8 докторов наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,  
доктор химических наук, профессор, академик РАН

Донцова О. А.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук

Агапкина Ю. Ю.

23 апреля 2024 г.