

О Т З Ы В

**на автореферат диссертационной работы Ковалея Владимира Васильевича
«Динамическая пластичность ДНК-гликозилаз и эндонуклеаз в комплексах с
ДНК: кинетические и структурные особенности», представленной на соискание
ученой степени доктора химических наук по специальностям
1.4.9. Биоорганическая химия и 1.5.3. Молекулярная биология**

Последние полвека энзимология как наука развивалась высокими темпами и в значительной степени изменила свой классический образ. Ранее выяснение механизмов ферментных реакций основывалось в существенной степени на кинетических характеристиках стационарного состояния и методах белковой химии (например, сшивание бифункциональными реагентами, связывание ингибиторов, аффинная модификация). Сейчас, с бурным развитием структурных методов, химическая энзимология опирается на данные, полученные с помощью рентгеноструктурного анализа, спектроскопии ЯМР и других физических методов; и в некоторых случаях становится возможным оценить структуру активного центра, связывание субстрата и эффектора. Также становится возможным предложить рациональные методы получения специфических ингибиторов и активаторов ферментов.

Белково-нуклеиновые комплексы участвуют во множестве различных ферментативных путей, где жесткая регуляция их каталитической активности имеет решающее значение для развития и поддержания биохимии клетки. Структурные методы внесли и вносят огромный вклад в понимание природы ферментативного катализа; эти данные описывают определенные, фиксированные состояния фермента и субстрата в процессе ферментативной реакции, почти ничего не говоря о последовательности событий, временных характеристиках переходов между стадиями. Другими словами, современной энзимологии не хватает динамических характеристик. Именно эти характеристики, в первую очередь данные о конформационных переходах в процессе ферментативной реакции являются, наряду с обсужденной выше структурной информацией, решающими при создании адекватных моделей ферментативного катализа. Существенный вклад в понимание этих вопросов вносят методы предстационарной кинетики и термодинамики ферментативного процесса с регистрацией конформационных превращений взаимодействующих молекул. Именно такого рода исследования и являются методической базой диссертационной работы В. В. Ковалея.

Таким образом, работа В. В. Коваля является новой и актуальной с точки зрения сразу двух аспектов, как биологического – изучение механизмов работы ферментов системы репарации ДНК – фундаментального клеточного процесса, так и физико-химического – применения современных методов для исследований сложной надмолекулярной системы.

Основной целью диссертационной работы В. В. Коваля было установление структурно-динамического механизма узнавания ДНК-субстратов и реализации каталитической функции ферментами репарации и ферментами геномного редактирования.

К наиболее важным результатам работы Коваля Владимира Васильевича можно отнести установление и детальную характеристику кинетического механизма реакции, катализируемой APE1 человека в процессе NIR; получение и верификация 3D-структуры эндонуклеазы *Apn1* из *S. cerevisiae*; доказательство того, что для восстановления поврежденной геномной ДНК *Apn1* может привлекаться путь NIR, демонстрируя значимость *Apn1* для репарации различного типа повреждений.

В работе автор применяет комплексный подход, включающий изучение кинетических характеристик взаимодействия между ферментом и субстратом, моделирование комплексов по методу молекулярной динамики и использования масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена для получения динамических структур.

Представленная работа имеет большое значение в фундаментальной области, что демонстрируют 26 научных работ, опубликованных в высокорейтинговых рецензируемых научных журналах, включенных в базу данных Web of Sciences.

Автореферат докторской диссертации В. В. Коваля оформлен традиционно, и содержит все требуемые разделы. Диссертационная работа Владимира Васильевича Коваля выполнена автором самостоятельно и на высоком научном и методологическом уровне. Работа изложена логично, она содержит доказанные значимые теоретические и практические результаты. Заключение и выводы, сделанные по результатам работы, обоснованы и полностью соответствуют задачам, поставленным в исследовании. Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации.

Диссертация Коваля Владимира Васильевича соответствует требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к работам подобного рода, т.к. результаты работы позволяют на структурно-динамическом уровне оценить механизмы узнавания в белково-нуклеиновых

комплексах и глубже понять фундаментальные основы реализации каталитической функции ферментами репарации и ферментами геномного редактирования.

Содержание диссертации отвечает специальностям 1.4.9. Биоорганическая химия и 1.5.3. Молекулярная биология (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

Автор диссертационной работы, Коваль Владимир Васильевич, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальностям 1.4.9. Биоорганическая химия и 1.5.3. Молекулярная биология.

Директор

Федерального государственного бюджетного

учреждения науки «Федеральный

исследовательский центр

«Институт катализа им. Г. К. Борескова

Сибирского отделения Российской академии наук»

доктор химических наук, профессор, академик РАН

В. И. Бухтияров

8 апреля 2024 года