

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертационной работы
Савицкой Виктории Юрьевны
«Особенности взаимодействия белков систем эксцизионной репарации
ДНК с G-богатыми фрагментами регуляторных областей генома
эукариот и прокариот», представленной на соискание ученой степени
кандидата химических наук
по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия**

Диссертационная работа Савицкой Виктории Юрьевны посвящена исследованию взаимодействия белков систем репарации “мисматчей” (mismatch repair, MMR) и оснований (base excision repair, BER) с GC-богатыми участками ДНК, способными формировать неканонические вторичные структуры, в первую очередь G-квадруплексы (G4). Такие участки широко представлены в регуляторных областях геномов как эукариот, так и прокариот, и нарушения в функционировании систем репарации в этих регионах ассоциированы с повышенной мутагенностью, включая онкогенные “драйверные” мутации в промоторе гена *hTERT*, а также с механизмами антигенной вариации у патогенных бактерий. Однако влияние G4-структур и GC-богатого состава ДНК на функционирование ключевых белков систем репарации MMR и BER изучено недостаточно. Диссертационная работа Савицкой В.Ю., направленная на выявление основных принципов функционирования систем репарации ДНК в клетках про- и эукариот и роли неканонических структур ДНК в их регуляции, имеет важное фундаментальное и прикладное значение, ее актуальность не вызывает сомнений.

В работе с использованием биохимических методов *in vitro* проведен анализ взаимодействия ключевых белков систем репарации MMR прокариот (MutL из *Neisseria gonorrhoeae* и MutS из *Cereibacter sphaeroides*) и BER человека (апуриновая/апиримидиновая эндонуклеаза APE1) с GC-богатыми последовательностями и образуемыми ими G-квадруплексными структурами на примере регуляторных областей генов *pilE* и *hTERT*. Полученные

экспериментальные результаты демонстрируют, что эндонуклеаза MutL из *N. gonorrhoeae* связывает G-квадруплекс, образованный G-богатой последовательностью перед геном *pilE*, в 3–5 раз более эффективно по сравнению с ДНК-дуплексами, но при этом не вносит одноцепочечный разрыв внутри G4-мотива. Это наблюдение указывает на возможную регуляторную функцию взаимодействия MutL с G4 в процессах антигенной вариации патогена. Савицкая В.Ю. также показала, что белок MutS из *C. sphaeroides* не способен эффективно дискриминировать «мисматч» G/T в GC-богатом окружении ДНК-дуплекса (82% GC-пар), что может являться одним из факторов повышенной мутагенности GC-богатых участков генома.

Интересные и значимые результаты получены автором по изучению взаимодействия APE1 человека с G-богатым фрагментом промотора *hTERT*. Проведено комплексное исследование взаимодействия фермента с олигонуклеотидами, содержащими стабильные синтетические аналоги AP-сайта (F-сайт) в позициях, соответствующих «драйверным» мутациям. Спектральными методами подтверждено образование *in vitro* G-квадруплекса параллельной топологии 68-звенным фрагментом матричной цепи промотора *hTERT* и установлено снижение термостабильности G4 при введении F-сайтов. Показано, что APE1 эффективно связывается с G4-структурой, однако его эндонуклеазная активность существенно снижается в условиях формирования G4. Полученные результаты имеют фундаментальное значение для понимания механизмов возникновения «драйверных» мутаций в промоторе *hTERT*, а также могут быть полезны для разработки новых подходов к терапии онкологических заболеваний.

Автореферат написан понятным языком, содержит большое количество иллюстраций. Выводы работы четко сформулированы и подтверждены экспериментальными данными. Тем не менее, можно высказать некоторые замечания к содержанию и тексту автореферата.

В разделе, посвященном взаимодействию ngMutL с G4-мотивом регуляторной последовательности перед геном *pilE* (стр. 10–11, рис. 4), приведены значения кажущихся констант диссоциации комплексов белка с 41- и 95-звенными субстратами, однако для 19-звенного G4-содержащего олигонуклеотида значение K_d рассчитать не удалось. При этом не обсуждается, с чем связано столь выраженное влияние длины фланкирующих областей на эффективность комплексообразования — является ли оно следствием изменения доступности G4-структуры, стабильности квадруплекса или неспецифического взаимодействия белка с одноцепочечными фланкирующими участками.

При изучении узнавания “мисматча” G/T белком csMutS в GC-богатом окружении (стр. 12–13, табл. 1) для дуплексов с составом GC-пар 82% наблюдается кооперативный характер связывания (модель Хилла, $n \approx 1,8$). В автореферате не обсуждается природа наблюдаемой кооперативности и то, не является ли она артефактом, обусловленным структурными особенностями GC-богатого дуплекса, а не отражением истинного механизма взаимодействия белка с ДНК.

Странный формат ссылки «Лаврик О., et. al. Биохимия. 2018» (стр. 4), по ней невозможно понять, какой источник имеется в виду, не удалось также найти статью с такими данными.

Указанные замечания не снижают качества представленной работы. Диссертационная работа Савицкой В.Ю. является завершенным научным исследованием, выполненным на высоком научном и методическом уровне. Полученные автором результаты значительно расширяют представление о механизмах функционирования и регуляции активности ферментов репарации в клетках про- и эукариот. Основные результаты, полученные диссертантом, опубликованы в 6 статьях в международных изданиях с высоким рейтингом (Молекулярная биология, Биохимия, Biomedicines, International Journal of Molecular Sciences, Life), а также представлены на 11 международных и всероссийских научных конференциях.

Учитывая высокий уровень исследований, большую теоретическую и практическую значимость полученных результатов, а также их достаточно полное отражение в публикациях, считаю, что диссертационная работа Савицкой В.Ю. «Особенности взаимодействия белков систем эксцизионной репарации ДНК с G-богатыми фрагментами регуляторных областей генома эукариот и прокариот» представляет собой законченное научное исследование и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия.

Ведущий научный сотрудник лаборатории биоорганической химии ферментов ФГБУН ИХБФМ СО РАН,

д.х.н. _____ Н.И. Речкунова

«17» апреля 2026 г.

Адрес места работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН ИХБФМ СО РАН)

630090 Россия, г. Новосибирск, пр-т Лаврентьева, д. 8, ИХБФМ СО РАН

Подпись Н.И. Речкуновой заверяю

Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН, к.б.н. _____ Е.Б. Логашенко