

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

GC-богатые участки ДНК, способные формировать неканонические вторичные структуры, в первую очередь G-квадруплексы (G4), широко представлены в регуляторных областях геномов как эукариот, так и прокариот. 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. Всё вышеизложенное определяет актуальность и новизну диссертационной работы Савицкой В.Ю.

В работе была поставлена задача провести биохимическую характеристику взаимодействия ключевых белков систем репарации MMR прокариот (MutL из *Neisseria gonorrhoeae* и MutS из *Cereibacter sphaeroides*) и BER человека (фермент APE1) с GC-богатыми последовательностями и образуемыми ими G-квадруплексными структурами *in vitro* на примере регуляторных областей генов *pilE* и *hTERT*.

На основании полученных экспериментальных результатов было обнаружено, что эндонуклеаза MutL из *N. gonorrhoeae* эффективно 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 открытие представляет значительный интерес, поскольку указывает на возможную регуляторную функцию взаимодействия MutL с G4 в процессах антигенной

вариации патогена. Савицкая В.Ю. также продемонстрировала, что белок MutS из *C. sphaeroides* не способен эффективно дискриминировать «мисматч» G/T в GC-богатом (82% GC-пар) окружении ДНК-дуплекса, что может являться одним из факторов повышенной мутагенности GC-богатых участков генома.

Важным достижением работы является комплексное исследование взаимодействия фермента APE1 человека с G-богатым фрагментом промотора *hTERT*, содержащим аналоги AP-сайта 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 значение для понимания механизмов возникновения «драйверных» мутаций в промоторе *hTERT* и могут быть полезны для поиска новых подходов к терапии онкологических заболеваний.

Имеется несколько замечаний к тексту автореферата:

При описании гидролиза одноцепочечных 96-звенных олигонуклеотидов ферментом APE1 (стр. 18) указано, что наибольшее снижение эффективности гидролиза наблюдалось для субстрата с заменой G→F в позиции -124 (до ~12%), однако не приведено объяснение, почему именно эта позиция оказывает наиболее выраженный эффект по сравнению с остальными. Было бы целесообразно обсудить этот вопрос с учетом расположения F-сайта относительно G4-мотивов.

На рис. 13 (стр. 19), демонстрирующем спектры КД двуцепочечных ДНК с заменами C→F в C-богатой цепи промотора *hTERT*, отмечено появление характерного пика при 260 нм, свидетельствующего о возможном формировании G4. Однако не указаны условия отжига дуплексов и не

обсуждается, какая доля ДНК может находиться в G4-форме и в дуплексной форме в условиях эксперимента.

Указанные замечания не снижают качества данной диссертационной работы. Полученные автором результаты, несомненно, представляют большой научный интерес, о чём свидетельствуют 6 статей в рецензируемых международных журналах (Молекулярная биология, Биохимия, Biomedicines, International Journal of Molecular Sciences, Life), опубликованных Савицкой В.Ю. по теме работы, а также апробация полученных результатов на 11 международных и всероссийских конференциях.

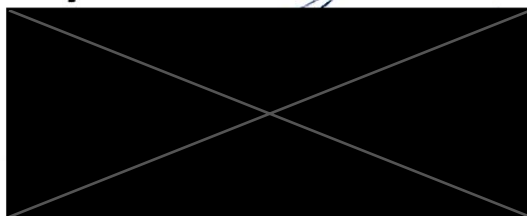
Диссертационная работа Савицкой В.Ю. «Особенности взаимодействия белков систем эксцизионной репарации ДНК с G-богатыми фрагментами регуляторных областей генома эукариот и прокариот» представляет собой законченное научное исследование и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842.

Ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией дизайна искусственных ферментов федерального бюджетного учреждения науки «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

кандидат химических наук

Федоров Олег Владимирович

«6» апреля 2026 г.



Адрес места работы: ФБУН НИИ СБМ Роспотребнадзора,
Научный проезд, д 18

