

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Анисенко Андрея Николаевича

«Постинтеграционная репарация ВИЧ-1 и ингибиторы этого процесса», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

Несмотря на успехи антиретровирусной терапии, проблема лекарственной устойчивости ВИЧ-1 остается острой. Поиск новых вирусных и клеточных мишеней, а также разработка ингибиторов с высоким генетическим барьером к резистентности – одна из приоритетных задач современной молекулярной биологии и вирусологии. Диссертация А.Н. Анисенко посвящена определению механизмов одного из наименее изученных этапов жизненного цикла ВИЧ-1 – постинтеграционной репарации (ПИР), а также созданию ингибиторов этого процесса. Автором впервые показано, что ПИР представляет собой сложный, строго регулируемый процесс, который зависит как от клеточных, так и от вирусных белков.

В диссертации А.Н. Анисенко получен ряд принципиально новых результатов. Впервые детально охарактеризована роль киназ DNA-PK и ATM из систем репарации двуцепочечных разрывов ДНК в инициации ПИР ВИЧ-1. Показано, что их активация происходит последовательно в ответ на интеграцию вирусной кДНК и полностью зависит от способности вирусной интегразы формировать комплекс с одной из субъединиц DNA-PK – белком Ku70. Продемонстрировано, что активация этих киназ в столь необычном контексте приводит к их автофосфорилированию, а также фосфорилированию их классических мишеней (Chk2, H2AX). Иными словами, начальные этапы ПИР ВИЧ-1 напоминают процессы, происходящие при репарации двуцепочечных разрывов ДНК, хотя в интеграционном интермедиате и отсутствуют такие повреждения. Очевидно, что дальнейшие участники путей репарации двуцепочечных разрывов ДНК не способны восстановить целостность интеграционного интермедиата ВИЧ-1, в силу структурных различий этих типов повреждений.

Автор установил, что к местам интеграции вирусной кДНК привлекаются не только регуляторные белки из систем репарации двуцепочечных разрывов ДНК, но и компоненты пути эксцизионной репарации оснований (BER), представленные, в основном, ферментами, завершающими этот путь репарации. Такие ферменты как раз и обладают активностями, необходимыми для восстановления целостности интеграционного интермедиата. Автор подтвердил функциональное участие белков из BER-пути в жизненном цикле ВИЧ-1,

продемонстрировав зависимость эффективности ПИР ВИЧ-1 от внутриклеточного уровня белка Fen1 и парилирующей активности PARP1 и/или PARP2. На основе полученных данных автором сформулирована гипотеза о совместном участии факторов репарации двуцепочечных разрывов ДНК и компонентов BER-пути, объясняющая функциональную роль белков из этих двух путей репарации в постинтеграционной репарации ВИЧ-1.

Поскольку весь каскад событий постинтеграционной репарации запускается только в том случае, если интегразы и Ku70 взаимодействуют, автором высказано предположение, что нарушение взаимодействия между этими белками могло бы негативно сказаться на эффективности ранних этапов репликации ВИЧ-1. Для проверки этой гипотезы автором разработан низкомолекулярный ингибитор s17, который связывается с Ku70 и нарушает взаимодействие интегразы ВИЧ-1 с ним *in vitro*. Для данного соединения и его производных А.Н. Анисенко показал, что они, действительно, подавляют ранние этапы репликации ВИЧ-1, блокируя постинтеграционную репарацию ВИЧ-1. В дополнение к этому автором работы показано, что такие соединения не влияют на основную клеточную функцию белка Ku70 – репарацию двуцепочечных разрывов ДНК по пути негомологичного соединения концов (NHEJ-путь).

Таким образом, работа А.Н. Анисенко не только расширяет наше понимание механизма постинтеграционной репарации ВИЧ-1, но и однозначно демонстрирует, что эта стадия жизненного цикла вируса может быть нарушена с использованием низкомолекулярных ингибиторов взаимодействия вирусной интегразы и клеточного белка Ku70.

Анисенко Андрей Николаевич провел большое, сложное и тщательное исследование. В работе использован широкий спектр классических методов молекулярной и клеточной биологии, вирусологии, а также предложен ряд оригинальных методик, разработанных и валидированных автором для решения задач проекта. Все полученные результаты являются статистически достоверными, хорошо проиллюстрированы в автореферате. Автореферат даёт полное представление о диссертационной работе. Он написан хорошим языком, построен по классической схеме и содержит все необходимые разделы, в которых последовательно и подробно изложены результаты исследования.

Замечаний к автореферату Андрея Николаевича у меня нет.

Считаю, что диссертационная работа А. Н. Анисенко отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание автореферата соответствует специальности 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. Автореферат оформлен 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.

Таким образом, считаю, что Анисенко Андрей Николаевич заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Профессор биологического факультета федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор биологических наук (03.01.03 – молекулярная биология)

07.05.26

Каменский Петр Андреевич