

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Абросимовой Л.А. «Гетеродимерная эндонуклеаза рестрикции BspD6I и конъюгаты гомодимерной эндонуклеазы рестрикции SsoII с олигодезоксирибонуклеотидами: особенности взаимодействия с ДНК», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Развитие технологий для направленного изменения геномной ДНК является актуальной задачей современной науки. Использование подходов, например, таких как ZFN, TALEN или CRISPR/Cas9, вывели технологии геномного редактирования в область практического применения. Развитие данного направления связывают с расширением круга потенциальных нуклеаз, их конъюгатов или химерных форм, обладающих улучшенными свойствами, в том числе имеющих механизм «включения» и «выключения» специфической нуклеазной активности. В связи с этим перспективными объектами исследования являются эндонуклеазы рестрикции, способные к расщеплению обеих цепей ДНК, либо ДНК-никазы, вносящие разрыв только в одну из цепей ДНК. Однако использование эндонуклеаз рестрикции в геномном редактировании серьезно ограничивается отсутствием данных о детальном механизме взаимодействия этих ферментов с ДНК.

В этой связи диссертационная работа Абросимовой Л.А., посвященная изучению функционирования термофильной гетеродимерной эндонуклеазы рестрикции BspD6I и мезофильной гомодимерной эндонуклеазы рестрикции SsoII, является актуальным научным исследованием, а обоснованность постановки задач, выполненных в ходе работы, не вызывает сомнений.

В ходе работы установлено, что в комплексе с BspD6I происходит изгибание ДНК на  $66 \pm 4^\circ$ . При этом фермент способен образовывать комплекс с продуктом собственного гидролиза. С помощью ДНК-дуплексов с нуклеозидными вставками впервые показано, что BspD6I образует контакт с рибозо-фосфатным остовом в комплементарной цепи ДНК. Показана возможность регулирования активности BspD6I в диапазоне температур от 25 до 45°C путем использования негидролизующих аналогов субстрата, которые выступают в качестве конкурентных ингибиторов. Впервые были синтезированы конъюгаты гомодимерной эндонуклеазы рестрикции SsoII с ДНК-фрагментами. Показано, что такие конъюгаты каталитически неактивны при 25°C, в то время как при 45°C способность ДНК-белкового конъюгата расщеплять субстрат восстанавливается.

В качестве замечания следует отметить то, что в тексте автореферата не проведено сравнение констант диссоциации комплекса BspD6I с ДНК-дуплексами, полученных разными методами. При этом  $K_D$  комплекса BspD6I с ДНК-дуплексами VII и VII' равны  $8 \pm 1$  нМ и  $46 \pm 4$  нМ, соответственно. Является ли это существенной разницей или определяется особенностями методологии получения данных констант?

В целом диссертационная работа Абросимовой Л.А. является законченным исследованием, в котором получены новые результаты в области биоорганической химии. Основные результаты диссертации опубликованы в ведущих международных и российских научных журналах, докладывались на международных и всероссийских конференциях. Указанные выше замечания не влияют на общую положительную оценку работы. Диссертация соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении

ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Абросимова Людмила Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Старший научный сотрудник  
Лаборатории исследования модификации  
биополимеров Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки «Институт  
химической биологии и фундаментальной медицины»  
Сибирского отделения Российской академии наук,  
кандидат химических наук

Кузнецов Н.А.

24 января 2017 г.



Почтовый адрес:  
Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения  
Российской академии наук, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8.  
Тел. +7 (383) 363-51-74  
E-mail: Nikita.Kuznetsov@niboch.nsc.ru