

Заключение диссертационного совета МГУ.03.01
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «11» октября 2018 г. № 15
О присуждении **Анисенко Андрею Николаевичу**, гражданину РФ, ученой степени
кандидата биологических наук

Диссертация «Структурно-функциональные особенности взаимодействия интегразы ВИЧ-1 и клеточного белка Ku70» по специальности 03.01.03 — «молекулярная биология» принята к защите диссертационным советом 29 мая 2018 года, протокол №10.

Соискатель **Анисенко Андрей Николаевич** 1992 года рождения, в 2014 году с отличием окончил факультет биоинженерии и биоинформатики Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова по специальности «Биоинженерия и биоинформатика», а в октябре 2018 года окончил аспирантуру факультета биоинженерии и биоинформатики Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова.

Диссертация «Структурно-функциональные особенности взаимодействия интегразы ВИЧ-1 и клеточного белка Ku70» выполнена в отделе химии нуклеиновых кислот Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова. Научный руководитель – Готтих Марина Борисовна, доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела химии нуклеиновых кислот Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова.

Официальные оппоненты:

Богданов Алексей Алексеевич, академик РАН, профессор, доктор химических наук, заместитель директора по науке, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова;

Рубцов Петр Михайлович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией молекулярногенетических основ эндокринной регуляции, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН);

Марахонов Андрей Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медикогенетический научный центр»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 6 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 6 работ, из них 6 статей, опубликованных, в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 03.01.03 - молекулярная биология:

Наиболее значительные работы:

1. **Anisenko A.N.**, Knyazhanskaya E.S., Zalevsky A.O., Agapkina J.J., Sizov A.I., Zatsepin T.S., Gottikh M.B. Characterization of HIV-1 integrase interaction with human Ku70 protein and initial implications for drug targeting // *Scientific Reports*. – 2017. – V. 7, № 1. – P.5649.
2. **Anisenko A.N.**, Knyazhanskaya E.S., Zatsepin T.S., Gottikh M.B. Human Ku70 protein binds hairpin RNA and double stranded DNA through two different sites // *Biochimie*. – 2017. – V. 132. – P.85–93.
3. Княжанская Е.С., Шадрина О.А., **Анисенко А.Н.**, Готтих М.Б. Роль ДНК-зависимой протеинкиназы в репликации ВИЧ-1 // *Молекулярная биология*. – 2016. – Т. 50, № 4. – С. 639- 654.
4. Agapkina J.J., Yanvarev D.V., **Anisenko A.N.**, Korolev S.P., Vepsäläinen J., Kochetkov S.N., Gottikh M.B. Specific features of HIV-1 integrase inhibition by bisphosphonate derivatives // *Eur. J. Med. Chem*. – 2014. – V. 73. – P. 73-82.
5. **Anisenko A.N.**, Agapkina J.J., Zatsepin T.S., Yanvarev D.V., Gottikh M.B. A new fluorometric assay for the study of DNA-binding and 3'-processing activities of retroviral integrases and its use for screening of HIV-1 integrase inhibitors // *Biochimie*. – 2012. – V. 94, № 11. – P. 2382-2390.
6. Korolev S.P., Knyazhanskaya E.S., **Anisenko A.N.**, Tashlitskii V.N., Zatsepin T.S., Gottikh M.B., Agapkina J.J. Modulation of HIV-1 integrase activity by single-stranded oligonucleotides and their conjugates with eosin // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. – 2011. – V. 30, №. 7-8. – P. 651- 666.

На автореферат диссертации поступило 4 отзыва. Все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался тем, что оппоненты являются ведущими специалистами в области молекулярной биологии, а так же наличием регулярных публикаций в данной сфере исследований.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание

ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований впервые определены структурные особенности образования комплекса интегразы ВИЧ-1 с клеточным белком Ku70. Установлено, что ключевую роль в образовании комплекса играют аминокислотные остатки альфа-6 спирали интегразы ВИЧ-1 (200-220 а.о.) и N-концевого домена Ku70 (1-250 а.о.). Более того автором исследования определены конкретные аминокислотные остатки интегразы ВИЧ-1 (E212 и L213), вовлеченные в образование комплекса, замена которых на аланин препятствует взаимодействию с Ku70. Показано, что ингибитор каталитической функции интегразы ВИЧ-1, представляющий собой конъюгат 11-звенного олигонуклеотида с эозином (11-ОМ-Е) является конкурентным ингибитором взаимодействия интегразы ВИЧ-1 и клеточного белка Ku70.

Для изучения функциональной роли взаимодействия интегразы ВИЧ-1 с клеточным белком помощником Анисенко А.Н. использует псевдовирусную систему на основе ВИЧ-1, позволяющую изучать ранние этапы репликации вируса в культуре клеток. Используя данную систему, Анисенко А.Н. показал, что мутации в составе интегразы ВИЧ-1, препятствующие взаимодействию с клеточным белком Ku70, резко негативно влияют на ранние этапы репликации вируса. С помощью разработанного в рамках работы уникального метода для оценки эффективности постинтеграционной репарации повреждений ДНК показано, что взаимодействие интегразы ВИЧ-1 с Ku70 важно для эффективной постинтеграционной репарации повреждений ДНК, вносимых интегразой. Более того, показано, что и другие компоненты ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-ПК), а именно Ku70, Ku80 и DNA-ПКcs, вовлечены в процесс постинтеграционной репарации повреждений ДНК. Показано, что комплекс DNA-ПК участвует в процесс постинтеграционной репарации ДНК, только в том случае, если интеграза образует комплекс с Ku70.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Рекомбинантные белки: интегразы ВИЧ-1 и белок человека Ku70 - образуют прочный комплекс *in vitro*.

2. Со стороны интегразы в связывании Ku70 принимают участие аминокислотные остатки α 6-спирали, а именно, E212 и L213. Со стороны Ku70 ключевую роль в образовании комплекса с интегразой играют аминокислотные остатки N-концевого домена с 1 по 250.

3. Конъюгат 11-звенного 2'-О-метил-олигонуклеотида (5'-GGUUUUUGUGU-3') с

эозином препятствует взаимодействию интегразы ВИЧ-1 и клеточного белка Ku70, экранируя аминокислотные остатки интегразы E212 и L213 в составе α 6-спирали.

4. Белок Ku70 действительно защищает интегразу от протеасомальной деградации, но этот эффект не обусловлен образованием комплекса между этими белками.

5. Взаимодействие интегразы ВИЧ-1 и клеточного белка Ku70 важно для завершения процесса интеграции вирусной ДНК, а именно, для постинтеграционной репарации ДНК.

На заседании 11.10.2018 диссертационный совет принял решение присудить **Анисенко Андрею Николаевичу** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, из них 6 докторов наук по специальности «молекулярная биология», 5 докторов наук по специальности «вирусология», участвовавших в заседании, проголосовали: за 12 против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета,
д.б.н.

Колб В.А.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н.
И.А.

Крашенинников



11.10.2018

Печать структурного подразделения МГУ