



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



УТВЕРЖДАЮ

Директор ФИЦ Биотехнологии РАН

д.б.н. Федоров А.Н.

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32
www.fbras.ru, info@fbras.ru

4.02.

2026 г.

04 ФЕВ 2026

№ 85-01-19/66

На №

от

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН) по
диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему
«Получение фармацевтически значимых гликопротеинов в клетках яичника китайского
хомячка», выполненной Синегубовой Марией Валерьевной по научным специальностям
1.5.4. Биохимия, 1.5.6. Биотехнология.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему
«Получение фармацевтически значимых гликопротеинов в клетках яичника китайского
хомячка», выполненная Синегубовой Марией Валерьевной по научным специальностям
1.5.4. Биохимия, 1.5.6. Биотехнология, подготовлена в ФИЦ Биотехнологии РАН в
лаборатории биоинженерии клеток млекопитающих.

Синегубова М.В. в 2018 году окончила с отличием Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности 33.05.01
«Фармация», с присвоением квалификацией «Провизор» (специалитет).

В 2022 году Синегубова М.В. успешно окончила аспирантуру ФИЦ Биотехнологии
РАН по научной специальности 1.5.6 Биотехнология.

Справки о сдаче кандидатских экзаменов выданы в 2022 г. и 2025 г.

В период подготовки диссертации в аспирантуре ФИЦ Биотехнологии РАН
Синегубова М.В. активно принимала участие в научных и научно-практических
конференциях, а также занимала должность младшего научного сотрудника в лаборатории
биоинженерии клеток млекопитающих, где она работает по настоящее время.

Научный руководитель — заведующий лабораторией биоинженерии клеток
млекопитающих ФИЦ Биотехнологии РАН, доктор биологических наук, Воробьев Иван
Иванович.

По результатам обсуждения диссертационной работы Синегубовой Марии
Валерьевны на межлабораторном семинаре, проведенном 22 декабря 2025 г. на базе ФИЦ
Биотехнологии РАН, подготовлено следующее заключение:

Актуальность проблемы диссертационного исследования

Актуальность работы обусловлена критической потребностью в эффективных

платформах для производства сложных рекомбинантных белков терапевтического и диагностического назначения. С одной стороны, пандемия COVID-19 потребовала быстрого создания высокоэффективных продуцентов ключевого диагностического антигена — рецептор-связывающего домена (RBD) SARS-CoV-2 — в промышленных масштабах, а также разработки биохимического теста суррогатной вирус-нейтрализации (сВНТ) с использованием полученного антигена. С другой стороны, сохраняется фундаментальная задача биотехнологии — получение высоких титров биологически активных гликопротеиновых гормонов с нативными биохимическими свойствами, чья гетеродимерная структура и высокая степень гликозилирования делают их синтез крайне сложным. Работа направлена на комплексное решение этих задач через инженерию генетических конструкций, оптимизацию биосинтеза, разработку масштабируемых процессов очистки и оценку биохимических характеристик продукта.

Личное участие автора диссертации в получении результатов

Экспериментальные данные, представленные в настоящей работе, получены лично автором либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование, выполнение экспериментов, обработку данных, а также оформление и публикацию результатов. Автор лично проводил получение линий-продуцентов на основе культивируемых клеток яичника китайского хомячка (трансфекция, ведение культур клеток, характеристика продуцентов и получаемых продуктов). Молекулярное клонирование проводилось совместно с к.б.н. Орловой Н.А. Постановка теста сВНТ, а также эксперименты по исследованию влияния сигнальных пептидов (СП) на титр гликопротеиновых гормонов проводились совместно с Колесовым Д.Э. Исследования стабильности свойств хроматографических сорбентов, используемых в технологическом процессе получения рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека (рФСГч) проводились совместно с д.б.н. Воробьевым И.И. Разработка методов очистки и контроля качества хорионического гонадотропина человека (ХГч) проводилась совместно с сотрудниками ООО «Фармапарк» Клишиным А.А., Зыряновым Д.А. Автор принимал непосредственное участие в разработке линии-продуцента ХГч, изготовлении клеточных банков, промышленном трансфере и валидации процесса культивирования в биореакторе, а также разработке и валидации ряда методик контроля качества субстанций ФСГ и ХГч.

Степень достоверности результатов, проведенных автором диссертации исследований, их научная новизна и практическая значимость

Достоверность исследований, описанных в работе, определяется обширной, тщательно проработанной методологической базой для проведения экспериментальной части, грамотной трактовкой и обработкой результатов. В работе использован широкий спектр биохимических, молекулярно-биологических, микробиологических и клеточных методов. Выводы, приведенные в работе, соответствуют полученным автором экспериментальным данным. Полученные данные анализировали с использованием современных методов статистической обработки. Достоверность данных также подтверждается успешным практическим применением результатов исследования в опытно-промышленном и промышленном производстве.

Научная новизна исследования заключается в решении комплекса фундаментальных и прикладных задач. Теоретическая значимость: 1) установлены механизмы, обеспечивающие стабильность экспрессии в векторах на основе промотора фактора элонгации трансляции китайского хомячка EEF1A1 и фрагмента конкатемера

длинных концевых повторов вируса Эпштейна-Барр (EBVTR); 2) разработан стабильный продуцент мономерного RBD SARS-CoV-2 и на его основе — эффективный биохимический тест сВНТ; 3) впервые доказано универсальное повышение секреции гликопротеиновых гормонов при использовании сигнального пептида человеческого альбумина; 4) разработан новый подход к балансировке экспрессии субъединиц ХГч, позволивший создать промышленно пригодный продуцент, секретирующий ХГч с нативными биохимическими свойствами; 5) впервые проведена комплексная валидация промышленного процесса очистки ФСГ, доказавшая возможность полного удаления примесей с сохранением биохимических свойств целевого продукта.

Практическая значимость исследования подтверждена внедрением его результатов. Разработанная линия-продуцент RBD SARS-CoV-2 стала источником антигена для производства диагностических тестов. Созданный сбалансированный продуцент ХГч с экономически выгодным титром представляет готовую основу для промышленного производства лекарственного средства. В настоящее время препарат ХГч успешно прошел доклинические исследования и находится в фазе клинических исследований. Результаты оптимизации процесса очистки рФСГч были напрямую перенесены в производство, что обеспечило выпуск более 60 партий стабильного по качеству лекарственного препарата «Примапур», успешно применяемого в клинической практике с 2019 года (разработчик ООО «АйВиФарма», Россия; производитель ООО «Завод Медсинтез», Россия).

Соответствие диссертации требованиям, установленным п. 14 Положения о присуждении ученых степеней

Диссертация соответствует требованиям, установленным п. 14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842: ссылки на авторов и источники заимствования материалов и отдельных результатов в диссертации выполнены корректно, в диссертации отмечено, какие результаты научных работ, приведенных в диссертации, получены автором диссертации лично, а какие – в соавторстве.

Научная специальность и отрасль науки, которым соответствует диссертация

Тема и содержание диссертации соответствуют научным специальностям 1.5.4. Биохимия, 1.5.6. Биотехнология, отрасль науки – Биологические науки.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором диссертации

Материалы диссертации изложены в работах, опубликованных автором диссертации, достаточно полно. В частности, основные научные результаты диссертации отражены в 19 публикациях, включая 6 публикации в научных изданиях, входящих в перечень изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций в соответствии с пп. 11-13 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842:

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

Статьи

1. Sinegubova M.V., Orlova N.A., Kovnir S.V., Dayanova L.K., Vorobiev I.I. High-level expression of the monomeric SARS-CoV-2 S protein RBD 320-537 in stably transfected CHO cells by the EEF1A1-based plasmid vector. // **PLoS One**. – 2021. – Vol. 16(2). – P.e0242890.

2. Kolesov D.E., Sinegubova M.V., Dayanova L.K., Dolzhikova I.V., Vorobiev I.I., Orlova N.A. Fast and Accurate Surrogate Virus Neutralization Test Based on Antibody-Mediated Blocking of the Interaction of ACE2 and SARS-CoV-2 Spike Protein RBD. // **Diagnostics**. – 2022. – Vol.12(2). – P.393.
3. Sinegubova M., Vorobiev I, Klishin A, Eremin D, Orlova N, Orlova N, Polzиков M. Purification Process of a Recombinant Human Follicle Stimulating Hormone Biosimilar (Primapur®) to Yield a Pharmaceutical Product with High Batch-to-Batch Consistency. // **Pharmaceutics**. – 2022. – Vol. 14(1). – P. 96.
4. Sinegubova M.V., Orlova N.A., Vorobiev I.I. 2023. Promoter from Chinese hamster elongation factor-1a gene and Epstein-Barr virus terminal repeats concatemer fragment maintain stable high-level expression of recombinant proteins. // **PeerJ**. – 2023. – Vol.11. – P.e16287.
5. Sinegubova M.V., Kolesov D.E., Dayanova L.K. et al. Enhancing human glycoprotein hormones production in CHO cells using heterologous beta-chain signal peptides. // **Doklady Biochemistry and Biophysics**. – 2024. – Vol. 514(1). – P.1–5.
6. Sinegubova M.V., Kolesov D.E., Vorobiev I.I., Orlova N.A. Increased glycoprotein hormone yield in stably transfected CHO cells using human serum albumin signal peptide for beta-chains. // **PeerJ**. – 2025. – Vol.13. – P. e18908.

Тезисы докладов

1. Синегубова М.В., Орлова Н.А., Ползиков М.А., Воробьев И.И. Исследование промышленной пригодности процессов выделения и очистки рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека. // Сборник тезисов XXXI Зимней молодёжной научной школы «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (11–14 февраля 2019 г.). – М.: Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. – С. 135.
2. Синегубова М.В., Ковнир С.В., Орлова Н.А., Ползиков М.А., Воробьев И.И. Исследование параметров культивации клеточной линии CHO C-P1.3-FSH-G4 – продуцента рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека. // Сборник тезисов 23-й Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (15–19 апреля 2019 г.), Пущино [Электронный ресурс]. – 2019. – С. 148.
3. Синегубова М.В., Орлова Н.А., Ковнир С.В., Воробьев И.И. Получение рецептор-связывающего домена шиповидного белка SARS-CoV-2 в стабильно трансфицированных клетках линии CHO. // Сборник тезисов XXXI Зимней молодёжной научной школы «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (8–11 февраля 2021 г.) – М.: Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. – С. 166.
4. Колесов Д.Э., Синегубова М.В., Даянова Л.К., Орлова Н.А., Воробьев И.И. Суррогатный метод определения вирус-нейтрализующих антител к вирусу SARS-CoV-2 при помощи конъюгата ангиотензин-превращающего фермента 2 с пероксидазой хрена и интактного рецептор-связывающего домена шиповидного белка. // XXXIV Зимняя молодёжная научная школа «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии». Сборник тезисов. – Москва, 8–11 февраля 2022 г. – С. 107.
5. Синегубова М.В., Орлова Н.А., Кочина Я.А., Воробьев И.И. Балансировка относительного уровня экспрессии цепей рекомбинантных гонадотропинов. // XXXIV

- Зимняя молодёжная научная школа «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии». Сборник тезисов. – Москва, 8–11 февраля 2022 г. – С. 118.
6. Ползиков М.А., Синегубова М.В., Воробьев И.И., Клишин А.А., Еремин Д.В., Орлова Н.А., Орлова Н.В. Российский рекомбинантный фоллитропина альфа: от разработки и контроля качества до реальной клинической практики. // Охрана материнства и детства. Издательство Витебского государственного медицинского университета. – 2022. – № 2 (40). – С. 109.
 7. Колесов Д.Э., Синегубова М.В., Орлова Н.А., Воробьев И.И. Замена нативных сигнальных пептидов бета-цепей гликопротеиновых гормонов на сигнальный пептид человеческого сывороточного альбумина приводит к повышению титра гетеродимерных гормонов в культуральной среде. // Сборник трудов четвертого студенческого биохимического форума. – г. Москва, 30 марта-1 апреля 2024 года. – С. 124.
 8. Синегубова М.В., Воробьев И.И., Орлова Н.А., Зырянов Д.А., Клишин А.А., Ползиков М.А. Получение биоаналогичного хорионического гонадотропина человека в культуре клеток китайского хомяка. // Сборник XXXIV Ежегодной международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». – г. Екатеринбург, 4-7 сентября 2024 г. – С. 40–41.
 9. Синегубова М.В., Колесов Д.Э., Воробьев И.И., Орлова Н.А. Увеличение титра гликопротеиновых гормонов в стабильно трансфицированных клетках СНО при помощи сигнального пептида человеческого сывороточного альбумина для бета-цепей. // Физико-химическая биология в год 270-летия МГУ. Сборник материалов международной научной конференции, посвященной 120-летию со дня рождения академика А. Н. Белозерского и 90-летию со дня рождения академика В. П. Скулачёва, Москва, 20–22 февраля 2025 г. / под общ. ред. П. В. Сергиева. – Москва: Издательство Московского университета. – 2025. – С. 145–146.
 10. Синегубова М.В., Воробьев И.И., Орлова Н.А., Зырянов Д.А., Клишин А.А., Ползиков М.А. Получение сбалансированного продуцента хорионического гонадотропина человека в культуре клеток СНО при помощи пары би- и трицистронных плазмид. // Сборник материалов Саммита разработчиков лекарственных средств «Сириус. Биотех», ФТ Сириус, 21–23 мая 2025 г. – Москва: ООО «Альпен-Принт». – 2025. – С. 256–258.
 11. Колесов Д.Э., Синегубова М.В., Орлова Н.А., Воробьев И.И. Определение точек инсерции целевых плазмид в геном и анализ событий геномной амплификации для линии-продуцента на основе клеток СНО при помощи секвенирования OXFORD NANOPORE. // Сборник материалов Саммита разработчиков лекарственных средств «Сириус. Биотех», ФТ Сириус, 21–23 мая 2025 г. – Москва: ООО «Альпен-Принт». – 2025. – С. 249–251.
 12. Орлова Н.А., Синегубова М.В., Колесов Д.Э., Ходак Ю.А., Воробьев И.И. Устранение узких мест в экспрессии биотехнологически значимых белков культивируемыми клетками китайского хомячка с помощью биоинженерии секреторного пути. // Сборник материалов Саммита разработчиков лекарственных средств «Сириус. Биотех», ФТ Сириус, 21–23 мая 2025 г. – Москва: ООО «Альпен-Принт». – 2025. – С. 251-252.

Патент

1. Воробьев И.И., Орлова Н.А., Синегубова М.В., Клишин А.А., Зырянов Д.А. Плазмиды для экспрессии рекомбинантного хорионического гонадотропина человека (ХГЧ),

плазмиды для экспрессии рекомбинантных альфа- и бета-субъединиц ХГЧ, моноклональные линии клеток млекопитающих – продуценты ХГЧ, способ получения рекомбинантного ХГЧ. // Патент РФ 2834784. Приоритет от 12.02.2024. // Бюл. "Изобретения. Полезные модели". – 14.02.2025. – № 5.

Рекомендуемые оппоненты:

Иванов Александр Владимирович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биохимии вирусных инфекций ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук» (ИМБ РАН).

Фирстова Виктория Валерьевна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ПМБ).

Рекомендуемая ведущая организация:

ФГБУН «Институт биологии гена Российской академии наук» (ИБГ РАН).

Диссертация «Получение фармацевтически значимых гликопротеинов в клетках яичника китайского хомячка», выполненная Синегубовой Марией Валерьевной, рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научным специальностям 1.5.4. Биохимия, 1.5.6. Биотехнология.

Заключение принято на заседании межлабораторного семинара ФИЦ Биотехнологии РАН, протокол № 2 от «22» декабря 2025 г.

На заседании присутствовало 16 человек, в том числе 4 доктора наук, 9 кандидатов наук, сотрудники ФИЦ Биотехнологии РАН, сотрудник Института биологии гена РАН.

Результаты открытого голосования:

«за» – 16 чел.,

«против» – нет,

«воздержавшихся» – нет,

протокол № 2 от «22» декабря 2025 г.

Председатель заседания межлабораторного семинара
заведующий лабораторией систем молекулярного клонирования,
д.б.н., профессор
Равин Н.В.



Секретарь
инженер лаборатории биоинженерии клеток млекопитающих,
к.х.н.
Рязанова А.Ю.

