

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.233.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по диссертации Юрковой Марии Сергеевны «Биотехнологическое применение свойств шаперона GroEL из *Thermus thermophilus*» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Решение диссертационного совета от 08 октября 2026 г. №10 о присуждении Юрковой Марии Сергеевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук

Диссертация Юрковой Марии Сергеевны «Биотехнологическое применение свойств шаперона GroEL из *Thermus thermophilus*» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите 04 июня 2026 г. протокол № 5 диссертационным советом 24.1.233.02 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Совет утвержден Министерством образования и науки Российской Федерации (Минобрнауки России) приказом № 205/нк от 16.03.2017 г. (с учетом переименования Совета от 03.06.2021 г. №561/нк, с учетом изменений в составе Совета в соответствии с приказом Минобрнауки России от 12.10.2022 г. №1162/нк).

Соискатель Юркова Мария Сергеевна, 1960 года рождения, гражданка РФ, в 1982 г. окончила Биологический факультет МГУ им М.В. Ломоносова по специальности «Биохимия». В 1988 г. окончила очную аспирантуру на кафедре биохимии Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. В 1991 г. Юрковой М.С. присуждена ученая степень кандидата биологических наук по результатам защиты кандидатской диссертации на тему «Изучение процесса диссоциации Gs-белка из мембран» по специальности 03.00.04. Биохимия. С 1982 по 2008 гг. работала научным сотрудником в Проблемной лаборатории Химии ферментов Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. С 2008 по 2017 г. работала в НИЦ Курчатовский институт в должности научного сотрудника. Поступила на работу в Институт биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН в 2017 г., в настоящий момент является старшим научным сотрудником лаборатории молекулярной биотехнологии Института биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН и заведующим этой лабораторией.

Диссертационная работа Юрковой Марии Сергеевны «Биотехнологическое применение свойств шаперона GroEL из *Thermus thermophilus*» выполнена в лаборатории молекулярной биотехнологии Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Научный консультант – доктор биологических наук Алексей Николаевич Федоров, директор Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор Муронец Владимир Израилевич, руководитель отдела биохимии животной клетки НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, и доктор медицинских наук, профессор Покровский Вадим Сергеевич, заведующий лабораторией биохимических основ фармакологии НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза, Федерального государственного бюджетного учреждения Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина Министерства здравоохранения Российской Федерации, и доктор биологических наук Лунин Владимир Глебович, руководитель лаборатории биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук – в своем положительном отзыве указала, что диссертация Юрковой Марии Сергеевны «Биотехнологическое применение свойств шаперона GroEL из *Thermus thermophilus*» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основе комплекса взаимосвязанных исследований разработаны и экспериментально обоснованы новые биотехнологические решения по получению, стабилизации и очистке сложных в работе рекомбинантных пептидов и белков с использованием инженерных производных молекулярного шаперона GroEL. Совокупность полученных результатов имеет существенное значение для развития белковой инженерии и биотехнологии. Созданы две взаимодополняющие системы слитых белков на основе полноразмерного GroEL и его апикального домена, разработаны функциональные пермутированные формы белка-носителя и внутренние аффинные метки, расширяющие технологические возможности созданных конструкций. Работа характеризуется научной новизной, внутренней логической завершенностью, достаточным объемом экспериментального материала, высоким методическим уровнем, обоснованностью выводов и выраженным прикладным потенциалом. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объему и качеству выполненных исследований, степени обоснованности научных положений и выводов диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, установленным пунктами 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с последующими изменениями), а ее автор, Юркова Мария Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются признанными специалистами в области изучения белков, их структурно-функциональных связей, практического применения белковых конструкторов, в том числе в качестве фармацевтических препаратов. Так, доктор биологических наук по специальности 03.01.04. Биохимия, профессор Муронец Владимир Израилевич – признанный специалист в области биохимии, энзимологии, белковой химии и клеточной биологии. Муронец Владимир Израилевич имеет многолетний опыт исследования молекулярных шаперонов и механизмов взаимодействия белков. В его публикационной активности представлены исследования структурных состояний GroEL–GroES-комплекса, включая работы по криоэлектронно-микроскопическому анализу комплекса GroEL–GroES и характеристике его нуклеотид-связанных конформационных состояний. Доктор медицинских наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и 1.5.4. Биохимия, профессор Покровский Вадим Сергеевич – признанный специалист в области биохимии белков и ферментов, экспериментальной онкологии, изучения механизмов действия биологически активных веществ и создания новых лекарственных препаратов на основе ферментов. В центре его научной деятельности находятся вопросы получения, исследования и практического применения функционально активных белков, а также изучения взаимосвязи их биохимических свойств с биологическим действием. В работах В.С. Покровского были исследованы различные ферменты, при этом внимание уделялось не только биологическому эффекту ферментов, но и фундаментальным биохимическим характеристикам, определяющим их функциональную активность и возможность практического применения. Доктор биологических наук по специальности 03.01.06. Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) Лунин Владимир Глебович – признанный специалист в области биотехнологии рекомбинантных белков, молекулярной биологии, конструирования и получения белковых антигенов, а также разработки подходов к созданию биологически активных белковых и наноструктурных систем. В научных работах В.Г. Лунина представлены исследования, связанные с получением рекомбинантных белковых молекул в гетерологичных системах экспрессии, их характеристикой и использованием для решения прикладных биомедицинских задач. Научная деятельность В.Г. Лунина также включает разработку и исследование различных рекомбинантных белков и белковых конструкций. Среди современных направлений его работы — получение функциональных белков и использование белковых модулей для создания биотехнологических систем. Квалификация оппонентов подтверждается наличием большого числа публикаций в цитируемых российских и зарубежных журналах. Выбор Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН) в качестве ведущей организации связан с тем, что в ИОГен РАН проводятся исследования в области генетики и биотехнологии микроорганизмов, молекулярной биологии белков, механизмов клеточного стресса, белкового фолдинга и функционирования молекулярных шаперонов. Одним из ключевых направлений деятельности лаборатории генетики микроорганизмов ИОГен РАН является изучение молекулярно-генетических механизмов функционирования микроорганизмов и разработка генетических и омиксных технологий для биотехнологии. Особенно существенным является направление

исследований ИОГен РАН, связанное с молекулярными шаперонами и поддержанием протеостаза в бактериальной клетке, что отражено в соответствующих публикациях. Высокая квалификация оппонентов и ведущей организации подтверждает их компетентность для всесторонней экспертной оценки диссертационной работы Юрковой М.С.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 19 экспериментальных статьях в рецензируемых научных изданиях и в 1 патенте, которые удовлетворяют п. 11 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями и дополнениями в редакции 18.07.2026):

1. Tarabarova A., Lopukhov A., Fedorov A.N., **Yurkova M.S.** Novel His-tag variants for insertion inside polypeptide chain // ACS Omega. – 2024. – V. 9. – P. 858–865. DOI: 10.1021/acsomega.3c06682.
2. Тарабарова А.Г., **Юркова М.С.**, Федоров А.Н. Новый Ni²⁺-аффинный вариант eGFP со свободными С- и N-концами // Прикладная биохимия и микробиология. – 2023. – Т. 59. – № 6. – С. 614–621. DOI: 10.31857/S0555109923060193.
3. Zenin V., Tsedilin A., **Yurkova M.**, Siniavin A., Fedorov A. Thermostable chaperone-based polypeptide biosynthesis: enfuvirtide model product quality and protocol-related impurities // PloS One. – 2023. – V. 18. – № 6. – art. e0286752. DOI: 10.1371/journal.pone.0286752.
4. Zenin V.A., **Yurkova M.S.**, Tsedilin A.M., Fedorov A.N. Enfuvirtide biosynthesis in thermostable chaperone-based fusion // Biotechnol. Rep. Amst. Neth. – 2022. – V. 35. – art. e00734. DOI: 10.1016/j.btre.2022.e00734.
5. **Yurkova M.S.**, Fedorov A.N. GroEL—a versatile chaperone for engineering and a plethora of applications // Biomolecules. – 2022. – V. 12. – № 5. – art. 607. DOI: 10.3390/biom12050607.
6. **Yurkova M.S.**, Sadykhov E.G., Fedorov A.N. Production of a toxic polypeptide as a fusion inside GroEL cavity // Sci. Rep. – 2020. – V. 10. – № 1. – art. 21024. DOI: 10.1038/s41598-020-78094-8.
7. **Юркова М.С.**, Саввин О.И., Зенин В.А., Федоров А.Н. Получение и характеристика безметионинового варианта термостабильного шаперона GroEL из *Thermus thermophilus* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019. – Т. 55. – № 2. – С. 138–143. DOI: 10.1134/S0555109919020156.
8. **Юркова М.С.**, Зенин В. А., Садыхов Э.Г., Федоров А. Н. Димеризация антимикробного пептида полифемузина I в единую полипептидную цепь: теоретические и практические следствия // Биотехнология. – 2019. – Т. 35. – № 5. – С. 36–41. DOI: 10.21519/0234-2758-2019-35-5-36-41.
9. Зенин В.А., Новикова Л.А., **Юркова М.С.**, Саввин О.И., Куров К.А., Федоров А.Н. Химическая модификация слитого белка на основе шаперона GroEL из *Thermus thermophilus* ингибитором протеаз AEBSF // Прикладная Биохимия и Микробиология. – 2019. – Т. 55. – № 6. – С. 553–558. DOI: 10.1134/S0555109919060163.
10. **Yurkova M.S.**, Zenin V.A., Nagibina G.S., Melnik B.S., Fedorov A.N. Physico-chemical characterization of permuted variants of chaperone GroEL apical domain // Applied Biochemistry and Microbiology. 2019. – V. 55. – № 6. – P. 588–595. DOI: 10.1134/S0003683819130027.

11. **Yurkova M.S.**, Sharapova O.A., Zenin V.A., Fedorov A.N. Versatile format of minichaperone-based protein fusion system // Sci. Rep. – 2019. – V. 9. – № 1. – P. 1–11. DOI: 10.1038/s41598-019-51015-0.
12. Куров К.А., Саввин О.И., **Юркова М.С.**, Зенин В.А., Нагибина Г.С., Мельник Б.С., Федоров А.Н. Физико-химическая характеристика варианта апикального домена шаперона GroEL для повышения уровня биосинтеза и увеличения стабильности целевых белков // Биотехнология. – 2018. – Т. 34. – №. 6. – С. 43-50. DOI:10.21519/0234-2758-2018-34-6-43-50.
13. Fedorov A.N., **Yurkova M.S.** Molecular chaperone GroEL – toward a nano toolkit in protein engineering, production and pharmacy // NanoWorld J. – 2018. – V. 4. – № 1. – P. 8–15. DOI:10.17756/nwj.2018-053.
14. Sharapova O.A., **Yurkova M.S.**, Fedorov A.N. A minichaperone-based fusion system for producing insoluble proteins in soluble stable forms // Protein Engineering, Design & Selection PEDS. – 2016. – V. 29. – № 2. – P. 57–64. DOI: 10.1093/protein/gzv060.
15. Зенин В.А., Куров К.А., Саввин О.И., Шарапова О.А., **Юркова М.С.**, Федоров А.Н. Подходы к эффективной стабилизации белков с помощью молекулярных шаперонов и их производных // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2016. – Т. 1. – № 1. – С. 225–229.
16. Федоров А.Н., **Юркова М.С.**, Лауринавичюте Д.К. Начальный структурный и функциональный анализ иммобилизованного гесЕ2, белка оболочки вируса гепатита С // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2007. – Т. 3. – С. 20–26.
17. **Юркова М.С.**, Лауринавичюте Д.К., Федоров А.Н. Экспрессия, выделение и характеристика функционального негликозолированного структурного белка Е2 вируса гепатита С // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2006. – Т. 4. – С. 32–37.
18. **Yurkova M.S.**, Patel A.H., Fedorov A.N. Characterisation of bacterially expressed structural protein E2 of hepatitis C virus // Protein Expression and Purification. – 2004. – V. 37. – № 1. – P. 119–125. DOI: 10.1016/j.pep.2004.05.016.
19. Федоров А.Н., **Юркова М.С.**, Гудим Е.А, Тоневицкий А.Г. Создание и характеристика рибосомных комплексов, несущих вновь синтезированный белок Е2 вируса гепатита С // Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2003. – Т. 7. – С. 41–44.

Патент:

Зенин В.А., **Юркова М.С.**, Садыхов Э.Г., Федоров А.Н., Суровцев В.В. Патент на изобретение РФ 27318952731895. Белок GroEL микроорганизма *Thermus thermophilus* с измененной аминокислотной последовательностью. Дата приоритета 28.11.2018, дата публикации 09.09.2020.

Материалы диссертации были доложены и обсуждены на международной и российской конференциях: III Объединенный научный форум VII Съезд физиологов СНГ. Научная сессия физиологического общества им. И.П. Павлова. VII Съезд биохимиков России. X Российский симпозиум «Белки и пептиды» (Сочи, Россия, 3–7 октября 2022), и FEBS Open Bio (Краков, Польша, 6-11 июля 2019).

В публикациях отражены результаты экспериментальной части в рамках диссертационной работы.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук, профессора Муронца Владимира Израилевича (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

1. Автор подробно рассматривает продукцию энфувирида и полифемузина I, было бы полезно провести сравнительный анализ предложенной технологии и существующих методов химического синтеза пептидов, особенно в отношении их безопасности и токсичности используемых соединений. Следовало бы обсудить иные способы вырезания пептидов из различных конструкций, например, с помощью протеолитического расщепления по специально введенным сайтам вместо использования бромциана.

2. Следовало бы обсудить возможные ограничения, связанные с иммуногенностью белков-носителей на основе шаперона GroEL при их потенциальном медицинском применении. Можно ли использовать менее иммуногенные эукариотические шапероны, например TRiC или его субъединицы? Возможно также, что шаперон GroEL может послужить своеобразным адъювантом при использовании слитых с ним антигенов для вакцинации.

3. При разработке внутренних полигистидиновых меток были исследованы 2 конкретных белка. Было бы интересно проверить эффективность этих меток на слитых конструкциях. Вероятно, это будет сделано при дальнейшем развитии работы.

4. Автор не сразу объясняет необходимость получения безметионинового шаперона и заставляет читателя строить догадки. Сначала можно предположить, что это делается для предотвращения окисления остатков метионина и последующей термоденатурации белка, что позволяет проводить очистку шаперона и его производных просто нагреванием. Лишь на 64 стр. выясняется, что это нужно для вырезания целевых пептидов с помощью гидролиза бромцианом. Вероятно, для конструктов, в которых предусмотрено вырезания протеазами по специфическим сайтам, не нужны безметиониновые шапероны (стр. 140).

5. В разделе «Материалы и методы» из-за выбранной структуры изложения некоторые методы повторяются (например, круговой дихроизм).

6. Стр. 104 – для точной идентификации остатков цистеина в полифемузина лучше было бы полностью их окислить, например, надмуравьиной кислотой.

7. Рис. 14 – название плохо сформулировано, на дорожке Г2 не указано где энфувирид.

8. Стр. 161. Жаль, что не исследовали шапероно-подобную активность пермутированных форм апикального домена.

9. Схема на 53 рисунки мало информативна, лишь запутывает читателя.

Отзыв официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Покровского Вадима Сергеевича (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

1. Предложенный подход к получению пептидов доказывает возможность использования биотехнологических подходов вместо химического синтеза, однако для практических рекомендаций было бы целесообразно провести также экономические расчеты технологических процессов.

2. Было бы интересно описать более широко спектр белков, которые могут выигрывать от присоединения к полипептидной цепи GrAD в качестве белка-носителя в системе слитых белков для повышения растворимости, с учетом целевых биологических свойств этих белков с подтверждением их сохранения. Есть ли смысл рассмотреть эту

технологии не только в контексте презентации антигенов, но и в качестве возможного инструмента доставки плохо растворимых терапевтических белков? В частности, интересно, какое количество целевого белка может высвободиться под действием энтерокиназы (для белков со встроенной последовательностью DDDDK), и как это может быть использовано при создании лекарственных препаратов (как бинарная терапия?).

3. В эксперименте по оценке функциональности (связывание белком Е6 ДНК) было бы целесообразно в качестве активного контроля представить данные по связыванию ДНК немодифицированным вариантом Е6.

4. В работе присутствуют некоторые незначительные неточности, касающиеся использования медицинских терминов. В частности, СПИД — терминальная стадия ВИЧ-инфекции, корректнее писать, что энфувиртид используется для терапии ВИЧ-инфекции.

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Лунина Владимира Глебовича (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

1. В диссертации показана эффективность разработанных систем на ограниченном наборе белков и пептидов. Насколько универсальными являются предложенные подходы для объектов существенно большего размера и иной структурной организации?

2. Представляет интерес сравнительный анализ эффективности предложенных систем с современными технологиями продукции белков на основе SUMO-, MBP-, NusA- и других распространённых белков-носителей.

3. В работе практически не обсуждаются возможные ограничения, связанные с масштабированием технологии до промышленного уровня и влиянием экономических факторов на её внедрение.

4. Было бы полезно привести более подробное обсуждение структурных причин различий в эффективности различных вариантов модифицированного апикального домена.

5. Для ряда созданных конструкций перспективным представляется проведение дальнейших исследований с использованием современных методов структурной биологии высокого разрешения, включая криоэлектронную микроскопию.

Отзыв ведущей организации – Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (положительный). Отзыв содержит следующие замечания и рекомендации:

1. Разработанная система биосинтеза пептидов убедительно продемонстрирована на полифемузине I и энфувиртиде, существенно различающихся по длине, заряду, структурированности и биологическим свойствам. Было бы полезно более четко сформулировать критерии, по которым можно заранее прогнозировать пригодность конкретного пептида для размещения в модифицированном комплексе GroEL/ES, включая возможные ограничения по длине, суммарному заряду, гидрофобности, склонности к формированию вторичной структуры и особенностям взаимодействия с внутренней поверхностью шаперона.

2. Для системы на основе GrAD показана стабилизация двух исходно нерастворимых вирусных белков. В связи с этим представляет интерес вопрос о пределах применимости данного подхода к целевым белкам существенно большей молекулярной массы и более сложной доменной организации. Насколько критичны для эффективности стабилизации размер белка, число доменов, площадь экспонированной гидрофобной поверхности и положение точки присоединения к белку-носителю?

3. В предложенной схеме получения пептидов важным этапом является высвобождение целевого продукта из слитой конструкции с использованием бромциана. Автор справедливо указывает на возможность адаптации этой стадии и применения иных химических или ферментативных способов расщепления. Для дальнейшего масштабирования технологии было бы целесообразно подробнее обсудить критерии выбора альтернативного способа высвобождения целевого пептида с учетом требований промышленной безопасности, селективности реакции, сохранения нативной структуры продукта и последующей регуляторной приемлемости процесса.

4. Разработанные внутренние полигистидиновые метки апробированы на GrAD207 и eGFP, причем показана зависимость их влияния от структурного контекста белка. Представляется важным более четко сформулировать алгоритм выбора типа His-метки и места ее введения в новый белок: какие параметры локальной вторичной структуры, конформационной подвижности, доступности растворителю и удаленности от функционально значимых участков следует считать определяющими для минимизации влияния метки на структуру и активность белка

Указанные вопросы носят преимущественно дискуссионный и перспективный характер, не затрагивают достоверность основных экспериментальных результатов, не ставят под сомнение сформулированные автором выводы и не снижают высокой общей оценки диссертационной работы.

На автореферат поступили положительные отзывы. Отзывы прислали:

1. **Кузьмин Денис Владимирович**, доктор биологических наук, директор Физтех-школы биологической и медицинской физики ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)». Замечание: Представляет интерес более подробное обсуждение физических механизмов стабилизации целевых белков внутри модифицированного комплекса GroEL, а также оценка пределов универсальности предложенной платформы для белков различного размера и структуры.
2. **Долгих Дмитрий Александрович**, член-корреспондент РАН, профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией инженерии белка, главный научный сотрудник ФГБУН Государственный научный центр Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Замечание: Было бы уместно оценить эффективность разработанной платформы при получении более крупных многодоменных белков, а также сравнить предложенную систему с другими широко применяемыми белками-носителями по выходу и качеству целевого продукта. В названии, на мой взгляд, слово «свойств» является лишним.
3. **Демидюк Илья Валерьевич**, доктор химических наук, профессор РАН, заместитель руководителя Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий по научной работе ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт». Замечание: В качестве замечания хотелось бы видеть более подробное обсуждение перспектив использования предложенных конструкций совместно с другими современными инструментами белковой инженерии, а также оценку возможности адаптации разработанной платформы к альтернативным белкам-шаперонам.
4. **Семисотнов Геннадий Васильевич**, доктор физико-математических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией экспериментальных исследований белковых олигомерных структур ФГБУН Институт белка Российской

академии наук. Вопросы: Во-первых, представляется интересным выяснить, насколько универсальна разработанная платформа и существует ли верхний предел размеров целевых белков и пептидов, при котором использование модифицированного GroEL остается эффективным. Во-вторых, в работе убедительно показана возможность получения ряда модельных объектов. Планируется ли дальнейшее исследование применимости предложенной системы для продукции сложных ферментов промышленного назначения либо многодоменных белков? В-третьих, в тексте автореферата часто употребляются слова стабильность и стабилизация целевого полипептида. Однако не расшифровано, что это означает и к каким воздействиям это относится.

5. **Синицын Аркадий Пантелеймонович**, профессор, доктор химических наук, заведующий лабораторией биотехнологии ферментов ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Вопросы: Представляется интересным выяснить, насколько универсальна система биосинтетического получения и стабилизации труднорастворимых белков, основанная на апикальном домене шаперона GroEL, GrAD. Любопытно также уточнить, предполагается ли масштабирование процесса токсичных антимикробных и терапевтических пептидов?
6. **Кочетов Алексей Владимирович**, академик РАН, доктор биологических наук, директор ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук». Замечания: представляет интерес дальнейшее исследование возможностей разработанной системы при экспрессии белков более сложной доменной организации, а также анализ влияния различных последовательностей вставок на стабильность комплекса GroEL/GroES. В очень впечатляющей и перспективной части работы, связанной со стабилизацией в растворах исходно нерастворимых белков с помощью слияния с апикальным доменом GroEL, было бы интересно оценить иммунологические свойства этого домена и их влияние на разработку новых значимых вакцин. Кроме того, было бы полезно более подробно обсудить возможные ограничения применения разработанной платформы при использовании альтернативных систем экспрессии.
7. **Замятин Андрей Александрович**, профессор, доктор биологических наук, и.о. декана факультета биоинженерии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». Замечание: В качестве пожелания хотелось бы видеть более подробное сравнение предложенной платформы с существующими промышленными системами получения рекомбинантных белков, а также оценку экономической эффективности разработанной технологии при масштабировании.
8. **Солонин Александр Сергеевич**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований» Российской академии наук». Замечания: Во-первых, при обсуждении механизмов стабилизации целевых белков основное внимание уделено прикладному результату — повышению растворимости и эффективности получения рекомбинантных продуктов. Однако практически не рассматриваются причины наблюдаемого эффекта. Возможно было бы интересно обсудить роль и вклад ограничения конформационной подвижности, изменения энергетического ландшафта фолдинга и влияния модифицированного шаперона на

кинетику образования агрегатов. Во-вторых, автор не уделил внимания подробному обсуждению потенциальных ограничений разработанной платформы, таких как максимально допустимые размеры целевых белков и пептидов, а также о степени универсальности предложенных конструкций. В-третьих, хотелось бы видеть более подробное сопоставление эффективности разработанной системы с существующими белками-носителями (MBP, NusA, SUMO, Тгх и другими) не только качественно, но и по количественным характеристикам выхода растворимого продукта.

Все отзывы положительные.

Вопросы задавали: д.б.н. Равин Н.В., д.б.н. Николаев Ю.А., д.б.н. Летаров А.В., д.б.н. Терешина В.М., д.б.н. Пименов Н.В.

В дискуссии приняли участие: д.б.н. Равин Н.В., д.б.н. Дедыш С.Н., д.б.н. Пименов Н.В.

Диссертационный совет отмечает, что диссертация Юрковой М.С., посвященная изучению и разработке нового направления в использовании шаперонов для решения комплекса биотехнологических задач, является завершенной научной работой.

Новизна работы заключается в том, что разработана новая стратегия биотехнологического применения модифицированных форм шаперона GroEL из *Thermus thermophilus* для получения и стабилизации сложных в работе рекомбинантных белков и пептидов.

Созданы функциональные варианты шаперона и системы слитых белков, позволяющие поддерживать целевые полипептиды в стабильном растворимом состоянии и повышать эффективность их биосинтетического получения.

Предложены оригинальные подходы к использованию модифицированных шаперонов и их доменов в качестве белков-носителей для экспрессии гидрофобных, токсичных и склонных к агрегации полипептидов.

Разработаны инновационные полигистидиновые метки для встраивания внутрь полипептидной цепи, а также функциональные конструкции со встроенными аффинными метками и свободными N- и C-концами, доказана перспективность использования модифицированных форм шаперона GroEL *Thermus thermophilus* в биотехнологии, в том числе для получения антимикробных пептидов, вирусных белков-кандидатов для создания вакцин и других практически значимых рекомбинантных продуктов, введены новые подходы к конструированию систем слитых белков на основе шаперонов, обеспечивающих стабилизацию целевых полипептидов и расширяющих возможности белковой инженерии и молекулярной биотехнологии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны положения о возможности сохранения функциональности шаперона GroEL при целенаправленной модификации его структуры методами белковой инженерии, что вносит существенный вклад в развитие представлений о прикладном потенциале молекулярных шаперонов,

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных микробиологических, молекулярно-биологических, биохимических, аналитических и биоинженерных методов исследования, изложены новые данные о свойствах модифицированных форм шаперона GroEL *Thermus thermophilus*, особенностях их взаимодействия с рекомбинантными белками и возможностях их применения в составе систем слитых белков, раскрыты перспективы применения шаперонов и их производных для стабилизации гидрофобных, токсичных и трудно экспрессируемых полипептидов в бактериальных системах экспрессии, изучены взаимосвязи между структурной организацией модифицированных вариантов шаперона и их способностью поддерживать стабильность и растворимость целевых белков и пептидов, проведена модернизация существующих подходов к созданию белков-носителей для систем слитых белков, обеспечивающая получение новых результатов в области молекулярной биотехнологии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны и внедрены экспериментальные системы слитых белков на основе модифицированного шаперона GroEL *Thermus thermophilus*, предназначенные для получения и очистки сложных в работе рекомбинантных белков и пептидов, определены перспективы практического применения разработанных конструкций для биосинтеза антимикробных пептидов, вирусных белков и других биотехнологически значимых продуктов, создана концептуально новая стратегия получения востребованных полипептидов в бактериальных системах экспрессии с использованием модифицированных форм шаперона, представлены рекомендации по использованию модифицированных форм шаперона в качестве широко применимых белков-носителей для стабилизации и эффективного получения рекомбинантных белков и пептидов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ результаты получены с использованием современных микробиологических, молекулярно-биологических, биохимических, аналитических и статистических методов, обеспечивающих высокую воспроизводимость и достоверность полученных данных, теория построена на современных представлениях о функционировании молекулярных шаперонов и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по молекулярной биотехнологии, белковой инженерии и биохимии белков, идея базируется на анализе существующих подходов к экспрессии и стабилизации рекомбинантных белков, а также на обобщении современных данных о функциях шаперонов, использованы сравнения авторских результатов с ранее опубликованными данными отечественных и зарубежных исследований, установлено, что полученные результаты согласуются с современными представлениями о механизмах функционирования шаперонов и демонстрируют высокую эффективность предложенных подходов, использованы современные методы обработки экспериментальных данных и анализа результатов исследований.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения работы, включая постановку задач, планирование и проведение экспериментов, получение и анализ результатов, разработку модифицированных конструкций шаперона

GroEL, интерпретацию экспериментальных данных, подготовку публикаций и апробацию результатов исследования на российских и международных научных конференциях.

Диссертационная работа Юрковой М.С. соответствует п. 1. Молекулярная биотехнология, генетическая и метаболическая инженерия, п. 4. Синтетическая биотехнология, п. 7. Прикладная энзимология, включая ферментные системы, технологии очистки белков, прикладные аспекты белковой инженерии, п. 9. Медицинские биотехнологии. Создание лекарственных форм, комбинированных препаратов и биологически активных препаратов. Технологии производства вакцин. Средства диагностики вирусных, бактериальных и грибных болезней, п. 25 Технологии биологически-активных соединений и биопрепаратов Паспорта специальности 1.5.6. Биотехнология, отрасль науки – Биологические науки.

Работа соответствует профилю Диссертационного совета 24.1.233.02 и требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук в соответствии с п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями и дополнениями в редакции от 18.07.2026).

На заседании 08 октября 2026 г. Диссертационный совет принял решение присудить Юрковой Марии Сергеевне ученую степень доктора биологических наук по специальности – 1.5.6. – Биотехнология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 чел., из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали «за» присуждение ученой степени – 17, «против» – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель
диссертационного совета 24.1.233.02
ФИЦ биотехнологии РАН
д.б.н.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.233.02
ФИЦ биотехнологии РАН
д.б.н.



Н.В. Пименов

Т.В. Хижняк

08 октября 2026 г.