

Отзыв на автореферат диссертации Юрковой Марии Сергеевны «Биотехнологическое применение свойств шаперона GroEL из *Thermus thermophilus*», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология

Несмотря на колоссальный накопленный опыт в области биосинтеза и выделения рекомбинантных белковых продуктов, отсутствие универсального метода, подходящего для любого типа белка, требует от исследователя непрерывного поиска новых эффективных стратегий. Работа Юрковой Марии Сергеевны посвящена разработке новых подходов к использованию молекулярного шаперона GroEL из *Thermus thermophilus* в качестве универсальной биотехнологической платформы для получения чужеродных рекомбинантных белков и пептидов. Исследование находится на стыке молекулярной биологии, белковой инженерии, биофизики и биотехнологии и затрагивает одну из наиболее актуальных проблем современной белковой биотехнологии — создание эффективных систем получения трудно экспрессируемых, нестабильных и склонных к агрегации полипептидов и белков.

Актуальность работы не вызывает сомнений. Использование природных свойств молекулярных шаперонов представляется весьма перспективным направлением. Особенно важно, что автор не ограничился применением уже известных подходов, а предложил принципиально новую стратегию инженерной модификации самого шаперона с целью придания ему новых технологических функций.

Следует отметить, что работа носит выраженный междисциплинарный характер. При решении поставленных задач использован широкий спектр современных методов молекулярной биологии, белковой инженерии, биохимии, биофизики и аналитической химии. Особое внимание заслуживает то обстоятельство, что разработанные конструкции не только получены, но и подробно экспериментально охарактеризованы, а их эффективность продемонстрирована на нескольких независимых модельных объектах. Хотелось отметить рациональность подхода автора к решению биотехнологических задач. Автор исследует наиболее сложные ситуации, при которых целевые полипептиды подвергаются эффективной агрегации. М.С. Юркова использует проблему, связанную с образованием «телец включения» целевых продуктов во благо. Автору удастся с учетом сложностей разработать технологию, которая позволяет не обходить проблему, а ее использовать и в конечном итоге создать перспективную модель эффективного и относительно дешевого технологического решения получения целевых продуктов.

Наиболее сильной стороной диссертации представляется последовательная логика исследования. Автор не ограничивается демонстрацией отдельных инженерных решений, а

фактически формирует целостную платформу биотехнологического использования шаперона GroEL. В работе представлены несколько самостоятельных направлений развития этой платформы: создание системы биосинтеза пептидов, разработка белков-носителей для получения труднорастворимых белков, создание функциональных вариантов минишаперона и разработка внутренних полигистидиновых меток. Последнее является существенным, так как позволяет сохранить не только конформацию конечного продукта, но и оба концевых участков полипептидной цепи. Каждое из этих направлений решения биотехнологических задач обладает собственной научной новизной и существенной практической ценностью.

С научной точки зрения особый интерес представляет рациональный подход к модификации структуры GroEL. Все внесённые изменения основаны на анализе пространственной организации комплекса и учитывают его функциональную архитектуру. Полученные результаты свидетельствуют о том, что несмотря на внесение существенных изменений в его структуру автору удалось сохранить основные функциональные свойства шаперона, необходимые для создания водорастворимых конструкций удобных для дальнейшей очистки целевых продуктов.

Высокой оценки заслуживает и практическая направленность исследования. Разработанные системы были успешно применены для получения как токсичного антимикробного пептида полифемузина I, так и терапевтического пептида энфувиртида, а также ряда труднорастворимых вирусных белков. Особенно важно, что автор рассматривает не только возможность получения целевых продуктов, но и вопросы масштабируемости технологии, упрощения очистки и потенциального промышленного применения разработанных подходов.

Работа Юрковой М. С. выполнена на высоком методическом уровне. С экспериментальным подтверждением полученных результатов. Актуальность представленной работы не вызывает сомнений. Работа не ограничивается описанием созданных конструкций, а включает исследование их структурных свойств, функциональной активности, стабильности и биологической эффективности. Использование взаимодополняющих методов существенно повышает достоверность выводов.

Вместе с тем по автореферату возникают отдельные вопросы и замечания, которые, однако, не снижают общей высокой оценки выполненного исследования.

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, Trx и другими) не только качественно, но и по количественным характеристикам выхода растворимого продукта.

Следует подчеркнуть, что приведённые замечания носят исключительно дискуссионный характер и не затрагивают достоверности как полученных результатов, так и основных выводов и таким образом не умаляют фундаментальной и практической ценности, диссертационной работы. Эти отдельные замечания не влияют в целом на общее положительное впечатление от работы. Сделанные М. С. Юрковой на основе экспериментальной работы выводы вполне обоснованы, и являются актуальными для таких отраслей науки как молекулярная биология, молекулярная генетика, биохимия, фундаментальная медицина и биотехнология. Диссертационная работа Юрковой М. С. является законченным научным исследованием, определяющим направление технологических подходов к созданию систем получения очищенных полипептидов и белков. Полученные данные опубликованы в ведущих отечественных реферируемых журналах и докладывались на научных конференциях.

Научное и практическое значение полученных результатов свидетельствуют о возможности применения разработанных методов экспрессии и очистки для фармакологически активных соединений.

Автореферат написан логично и последовательно, хорошо иллюстрирован и позволяет составить целостное представление о проведённом исследовании. а список из 21 статьи, включающий как отечественные, так и зарубежные публикации, а также один патент свидетельствует о роли исследований Юрковой М. С. в определении альтернативных подходов к получению и очистке чужеродных полипептидов и белков, которые имеют значительные ограничения, связанные высокой склонностью к агрегации. Основные положения диссертации апробированы на российских и международных конференциях.

По новизне полученных результатов, объёму выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям. Диссертационная работа Юрковой Марии Сергеевны «Биотехнологическое применение свойств шаперона

GroEL из *Thermus thermophilus*» представляет собой завершённое научно-квалификационное исследование, содержащее решение крупной научной задачи, имеющей существенное значение для развития белковой инженерии и современной биотехнологии соответствует критериям, установленным в соответствии с п. 2.1. Федерального закона от 23 августа 1996 г. № 127 «О науке и государственной научно-технической политике» и предъявляемым к докторским диссертациям по пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в действующей редакции) с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а ее автор, Юркова Мария Сергеевна, безусловно заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. — Биотехнология.

Отзыв составил:

Солонин Александр Сергеевич



Доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований» Российской академии наук» 142290 Московская область, г. Пущино, проспект Науки 5, ИБФМ им. Г.К. Скрыбина РАН, Тел.: 8 9263013903, эл. почта: solonin.a.s@yandex.ru

Подпись Солонина Александра Сергеевича заверяю:

23.09.2026

