

ОТЗЫВ

официального оппонента Лунина Владимира Глебовича,
доктора биологических наук, руководителя лаборатории биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации
на диссертацию Юрковой Марии Сергеевны
«Биотехнологическое применение свойств шаперона GroEL из *Thermus thermophilus*»,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 1.5.6. Биотехнология

Диссертационная работа Юрковой Марии Сергеевны посвящена разработке принципиально новых подходов к использованию молекулярного шаперона GroEL как инструмента белковой инженерии и биотехнологии. Работа представляет собой масштабное многолетнее исследование, сочетающее фундаментальное изучение структурно-функциональных свойств шаперонов с созданием на их основе новых технологических платформ для получения рекомбинантных белков и пептидов.

Следует отметить, что проблема получения рекомбинантных полипептидов со сложными физико-химическими свойствами остаётся одной из центральных проблем современной молекулярной биотехнологии. Особые трудности возникают при продукции токсичных пептидов, белков вирусного происхождения, а также полипептидов, склонных к агрегации и образованию телец включения. Несмотря на наличие многочисленных систем экспрессии и разнообразных белков-носителей, универсальное решение данной проблемы до настоящего времени отсутствует.

В этом контексте работа Юрковой М.С. представляется исключительно актуальной и своевременной.

Наиболее сильной стороной диссертации является её концептуальная целостность. Автором фактически сформировано новое направление практического использования шаперонов, основанное не на традиционной коэкспрессии шаперонов с рекомбинантными белками, а на рациональной модификации самих молекул шаперонов и превращении их в самостоятельные инструменты белковой инженерии.

Особого внимания заслуживает разработанная система продукции пептидов внутри полости полноразмерного комплекса GroEL. Автором продемонстрировано, что внутренняя камера шаперона может служить своеобразным молекулярным реактором, обеспечивающим защиту синтезируемого полипептида от деградации, агрегации и токсического воздействия на клетку-хозяина. Получение одного из наиболее сложных объектов данного класса — антимикробного пептида полифемузина I — является убедительным подтверждением работоспособности предложенного подхода.

Не менее важным представляется создание системы на основе модифицированного апикального домена GroEL. Полученные результаты демонстрируют возможность перевода исходно нерастворимых белков в стабильное растворимое состояние без

существенной потери их структурной организации. Следует подчеркнуть, что подобные системы востребованы не только в биотехнологии, но и в структурной биологии, где получение растворимых форм рекомбинантных белков зачастую является лимитирующим этапом исследований.

К числу наиболее значимых достижений автора необходимо также отнести создание функциональных пермутированных вариантов апикального домена GroEL. Подобные исследования требуют глубокого понимания взаимосвязи структуры и функции белков и свидетельствуют о высоком уровне владения современными методами белковой инженерии.

Отдельного упоминания заслуживает разработка новых вариантов внутренних полигистидиновых меток. В настоящее время подавляющее большинство аффинных меток располагается на N- или C-конце белковой молекулы, что нередко ограничивает возможности конструирования слитых белков. Предложенные автором решения позволяют существенно расширить инструментарий белковой инженерии и представляют самостоятельный научный интерес.

Следует отметить высокий методический уровень работы. Автором использован широкий комплекс современных экспериментальных подходов, включающий методы молекулярного клонирования, препаративной и аналитической хроматографии, масс-спектрометрии, спектроскопии кругового дихроизма, поверхностного плазмонного резонанса, молекулярного моделирования и других методов современной биохимии и молекулярной биологии.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Выводы диссертации логично следуют из представленного экспериментального материала и хорошо согласуются с современными представлениями о механизмах функционирования молекулярных шаперонов.

Высокий научный уровень исследования подтверждается публикацией результатов в авторитетных международных журналах, включая Scientific Reports, Biomolecules, ACS Omega, PLoS One, Protein Engineering Design and Selection и другие издания, индексируемые в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Несмотря на исключительно положительное впечатление от работы, ряд вопросов требует дополнительного обсуждения.

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 распространенных 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.

Однако перечисленные замечания носят исключительно дискуссионный характер и ни в коей мере не снижают научной ценности выполненной работы.

Диссертация Юрковой Марии Сергеевны является крупным завершённым научным исследованием, в котором решена важная научная проблема создания новых инженерных платформ на основе молекулярного шаперона GroEL для получения и стабилизации рекомбинантных белков и пептидов.

По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям согласно пунктам 9–14 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842, а её автор заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Я, Лунин Владимир Глебович, настоящим даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ФИЦ Биотехнологии РАН и в Федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело соискателя и дальнейшую обработку.

Официальный оппонент Лунин Владимир Глебович,
доктор биологических наук (03.01.06. Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)),
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
123098, Российская Федерация, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18 +7 (499)1933001
lunin1955@gmail.com

Дата: 09.09.26

Лунин Владимир Глебович

Подпись д.б.н. Лунина В.Г. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России

К.б.н. Сысолятина Е.В.

