УТВЕРЖДАЮ:

ВРИО директора Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ФБУН ГНЦ ПМБ) Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



_____А.А. Горбатов

«10» ноября 2026 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на диссертационную работу Прокопенко Юрия Анатольевича «Рекомбинантные белки на основе структуры IgA1-протеазы N. meningitidis с протективным антибактериальным действием», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Актуальность темы выполненной работы.

Менингиты бактериальной природы остаются серьезной проблемой глобального здравоохранения вследствие тяжести клинического течения и высокого уровня летальности. Актуальность диссертационного исследования Ю.А. Прокопенко обусловлена необходимостью решения важнейшей стратегической задачи здравоохранения и биологической безопасности Российской Федерации — созданием универсальных средств специфической профилактики бактериальных инфекций. Регистрация Министерством здравоохранения РФ в 2026г первой отечественной четырехвалентной конъюгированной вакцины «Ментетра» (производства «Петровакс Фарм») и плановый выход предприятия на производственные мощности свыше 6 млн

доз в год к началу 2027 года позволяют полностью закрыть базовую потребность населения в защите от серогрупп A, C, Y и W-135 *N. meningitidis*. Однако, несмотря на высокую иммуногенность и сероконверсию современных конъюгированных препаратов, достигающую 99,16–100%, все существующие коммерческие вакцины обладают фундаментальным ограничением — узкой сероспецифичностью. Они направлены исключительно против ограниченного набора капсульных полисахаридов, что создает риски серотипового сдвига в популяции, оставляет незащищенным население против эпидемически значимой серогруппы B и требует постоянного расширения состава препаратов.

В связи с этим крайне актуален поиск консервативных белковых антигенов, общих для различных штаммов. Одним из ключевых факторов вирулентности является IgA1-протеаза — сериновый экзофермент, расщепляющий IgA антитела человека. Бактериальная IgA1-протеаза характеризуется высокой гомологичностью для *N.meningitidis* (независимо от серогруппы), *N. gonorrhoeae* и некоторыми штамми *H. influenzae*, что позволяет рассматривать данный антиген или его иммуногенные фрагменты в качестве основы для создания вакцины.

Диссертационная работа Ю.А. Прокопенко посвящена изучению роли различных участков первичной структуры IgA1-протеазы из *Neisseria meningitidis* серогруппы B штамма H44/76 в индуцировании иммуногенности и протективности, а также созданию новых рекомбинантных белков – протективных антигенов для долгосрочной эффективной защиты организмов от инфекционных заболеваний, вызываемых патогенными штаммами N. meningitidis и других бактерий, продуцирующих близкие по первичной структуре IgA1-протеазы серинового типа.

Это направление открывает перспективы для создания универсальной поливакцины и определяет высокую востребованность проведенного исследования. Диссертационная работа критически важна для импортозамещения и биологической безопасности РФ, что определяет её высокую актуальность.

Достоверность и научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Сформулированные автором научные положения, выводы и заключение характеризуются строгой логикой, теоретической обоснованностью и опираются на репрезентативный массив экспериментальных данных. В работе применен комплекс современных бактериологических, молекулярно-генетических, физико-химических, и биоинформатических методов, полностью соответствующих поставленным целям. Достоверность результатов подкреплена использованием корректных контролей и подтверждена методами статистического анализа.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в теоретическом обосновании и экспериментальном подтверждении принципиально нового подхода к созданию универсального

противоменингококкового антигена на основе консервативных участков IgA1-протеазы *Neisseria meningitidis*. Автором впервые проведен масштабный биоинформатический анализ первичных структур данного фермента у более чем 1000 известных штаммов менингококка различных серогрупп, включая A, B и C, в результате чего интервалах 28–84, 146–193, 253–539, 567–628, 639–795 и 811–1004 по нумерации IgA1-протеазы из N. meningitidis серогруппы B, штамм H44/76 была выявлена высокая степень идентичности последовательностей. Это позволило научно аргументировать выбор IgA1-протеазы в качестве консервативной платформы для проектирования действующего вещества, обладающего пан-серогрупповым протективным действием.

В рамках реализации дизайна протективного антигена автором было рассчитано пространственное расположение B- и MHC-II T-клеточных эпитопов в первичной структуре белка *N. meningitidis* серогруппы B, что послужило основой для отбора наиболее перспективных иммуногенных фрагментов. С учетом проведенных расчётов, физико-химических свойств и консервативности отдельных локусов, были впервые сконструированы и получены семь низкомолекулярных рекомбинантных белков.

Приоритетный характер носят и результаты сравнительных доклинических испытаний *in vivo* на мышах линии BALB/c, в ходе которых были комплексно изучены иммуногенные и протективные свойства полученных кандидатов и определены два наиболее эффективных рекомбинантных гибридных белка.

Научную ценность представляют установленные автором закономерности динамики иммунного ответа и особенности формирования долговременной иммунологической памяти при введении белка M(W140–H328)-(W412–D604)-(Y866–P1004)-LEH6 в составе ряда протективных композиций.

Впервые детально охарактеризованы механизмы противоменингококковой защиты иммунизированных животных от заражения штаммами серогруппы B и экспериментально доказано, что наилучшими иммунологическими показателями обладают две оригинальные липосомальные формы — непосредственно белок и комбинированный препарат, сочетающий рекомбинантный белок с ДНК, кодирующей его в клетках эукариот.

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертации

Важным вкладом в методологию рационального дизайна антигенов стала разработка оригинального подхода к конструированию низкомолекулярных белковых молекул на основе прецизионного компьютерного прогнозирования линейных и пространственных B- и T-клеточных эпитопов в структуре зрелой IgA1-протеазы штамма N. meningitidis H44/76 серогруппы B.

В ходе работы была установлена прямая связь между первичной структурой отдельных локусов фермента и их способностью индуцировать направленный защитный ответ. Кроме того, автором получены новые приоритетные данные о механизмах формирования долгосрочной иммунологической памяти и кинетике гуморального ответа in vivo, а также охарактеризована протективная активность искусственных гибридных конструктов в составе бинарных ДНК-белковых и классических липосомальных систем.

Практическая ценность диссертации состоит в создании универсальной научно-технологической платформы для получения семи оригинальных рекомбинантных укороченных белков уменьшенной молекулярной массы. Замена полноразмерного фермента оптимизированными фрагментами с сохранением протективных свойств позволила существенно упростить, удешевить и технологически оптимизировать процессы гетерологичной экспрессии в клетках Escherichia coli, последующего рефолдинга и глубокой хроматографической очистки целевых белков.

В качестве наиболее перспективных кандидатных действующих веществ для поливалентных вакцин нового поколения автором были экспериментально определены и рекомендованы к производству два рекомбинантных гибридных антигена

Указанные молекулы в опытах на лабораторных животных продемонстрировали выраженную способность защищать от заражения широкой панелью социально значимых инфекций, включая менингококки серогрупп A, B и C, штаммы гемофильной инфекции и стрептококки серотипов 3, 14 и 19A. В рамках оптимизации готовой вакцинной формы доказано, что инкапсуляция антигенов в липосомы на основе дипальмитоилфосфатидилхолина обеспечивает максимальный уровень протекции от летальной инфекции.

Высокий уровень прикладной значимости диссертации подтверждается получением патента на изобретение, защищающего рекомбинантный белок с протективным действием, кодирующий его полинуклеотид, плазмидную ДНК, штамм-продуцент и способ получения целевого продукта.

Результаты диссертационной работы служат готовой основой для создания первой отечественной универсальной вакцины широкого спектра действия против менингококковой инфекции любой серогрупповой принадлежности и сопутствующих бактериальных патогенов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций диссертационной работы

Выбранная автором методология и общая структура исследования полностью соответствуют заявленной теме диссертационной работы, а последовательное решение поставленных задач позволило исчерпывающе раскрыть ее научную суть. Степень обоснованности и достоверности сформулированных в диссертации положений, выводов и практических рекомендаций определяется репрезентативным объемом накопленного

фактического материала. Надежность полученных автором результатов и правомерность сделанных на их основе заключений дополнительно подтверждаются корректным применением методов современного статистического анализа.

Структура и содержание диссертации, её завершенность

Диссертационная работа Прокопенко Юрия Анатольевича представляет собой завершенное, логически последовательное и структурно сбалансированное научное исследование. Работа построена по традиционному принципу и включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы, главу собственных исследований, объединяющую изложение полученных результатов и их детальное обсуждение, а также заключение, выводы, список литетурных источников. Основной текст диссертации изложен на 131 страницах машинописного текста, содержит 21 рисунок. Библиографический список составлен из 217 научных источников, отражающих актуальное состояние изучаемой проблемы.

В главе, посвященной обзору профильной литературы, автором проведен глубокий научно-теоретический анализ современного состояния проблемы этиологии, патогенеза и специфической профилактики инфекционных менингитов. В рамках системного подхода в тексте подробно рассмотрены менингиты различной природы, включая вирусную, бактериальную, грибковую и паразитарную этиологию. Особое внимание в работе справедливо сфокусировано на биологических свойствах ключевого патогена — *Neisseria meningitidis*. Автор детально анализирует факторы вирулентности менингококка, отводя центральное место структурно-функциональной характеристике бактериальных IgA1-протеаз серинового типа как важнейших инструментов преодоления слизистых барьеров макроорганизма и ускользания от факторов гуморального иммунитета. Логическим завершением обзора служит критический разбор эволюции противоменингококковых вакцин. На основе обобщения обширного литературного материала автором убедительно обоснована актуальность поиска и биотехнологического конструирования принципиально новых, универсальных консервативных антигенов, способных обеспечить кросс-протективную защиту против широкого спектра серогрупп и ассоциированных бактериальных патогенов.

Методологический базис и условия проведения экспериментов подробно изложены в главе «Материалы и методы». Для реализации поставленных задач автором были успешно интегрированы актуальные микробиологические, физико-химические, молекулярно-генетические, электронно-микроскопические и иммунологические методические подходы, подробное описание и валидация которых исчерпывающе изложены в главе 2 «Материалы и методы». Основной аналитический блок работы, представленный в разделе «Результаты и обсуждение», имеет четкую внутреннюю логику и распределен по пяти взаимосвязанным подглавам, последовательно отражающим ключевые этапы решения научной проблемы.

В первой подглаве отражены результаты биоинформационного анализа, который позволил выбрать высоко консервативные участки во всех штаммах Neisseria meningitidis. Во второй подглаве проведены расчёты и выявлены Т- и В-клеточные эпитопы в структуре IgA1-протеазы N. meningitidis. Из спроектированных белков была создана соответствующая генетическая конструкция, трансформированная в клетки E. coli штамма BL21(DE3). В третьем - детально охарактеризована схема выделения и очистки полученных рекомбинантных белков. Четвертый раздел посвящен оценке их иммуногенного и протективного потенциала. Наконец, в пятом разделе представлены результаты подбора оптимального состава препаратов с применением различных адъювантов.

В заключении дается последовательное и логически стройное краткое изложение полученных результатов исследования, которые соответствуют поставленным диссертантом цели и задачам.

Стиль и оформление автореферата и диссертации соответствуют общепринятым стандартам и требованиям, предъявляемым к соискателям ученой степени кандидата наук, присутствуют все необходимые разделы. Содержание в полной мере отражает основные аспекты диссертационной работы. Цель, задачи, положения, выносимые на защиту и выводы, указанные в автореферате, соответствуют таковым в диссертации.

По существу изложенных материалов в диссертационной работе Ю.А. Прокопенко принципиальных замечаний нет. Однако, в процессе ознакомления с диссертацией возникли вопросы для обсуждения:

1. В диссертационном исследовании в качестве кандидатных антигенов для разработки вакцинных препаратов предложены две композиции, одна из которых представляет собой рекомбинантный белок в сочетании с плазмидной ДНК, кодирующей его экспрессию в клетках эукариот. Оценивались ли автором в рамках данной работы потенциальные отдаленные последствия введения ДНК-компонента, включая риски генотоксичности, интеграции в геном макроорганизма или персистенции конструкции?

2. В пятой главе диссертационного исследования, посвященной выбору адъювантных систем, автором рассматривается применение гидроксида алюминия и липосомальных конструкций на основе дипальмитоилфосфатидилхолина (DPPC). Каковы молекулярно-клеточные механизмы адъювантного действия данных липосом и их специфическое влияние на индукцию гуморального и клеточного звеньев иммунного ответа?

Заключение

Диссертационная работа Прокопенко Юрия Анатольевича «Рекомбинантные белки на основе структуры IgA1-протеазы N. meningitidis с протективным антибактериальным действием», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора химических наук, член-

корреспондента РАН Смирнова Ивана Витальевича, и содержит оригинальное решение важной научно-практической задачи, направленной на конструирование универсального антигена для разработки поливалентной вакцины против менингита бактериальной этиологии. По актуальности, методическому уровню, научной новизне полученных результатов, их практической значимости диссертация Прокопенко Юрия Анатольевича соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, с изменениями, утверждёнными постановлением Правительства Российской Федерации (№335 от 21.04.2016; №748 от 02.08.2016; №1024 от 28.08.2016; 1168 от 01.10.2018; №426 от 20.03.2021; 1539 от 11.09.2021; №1690 от 26.09.2022, N 415 от 18.03.2023, N 1786 от 26.10.2023, N 62 от 25.01.2024 и N 1382 от 16.10.2024, с изменениями и дополнениями, вступившими в силу с 01.01.2025), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Ученого Совета ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора (протокол № 7 от 10 ноября 2026 г.).

Главный научный сотрудник
лаборатории молекулярной биологии
ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора
доктор биологических наук,
Фирстова Виктория Валерьевна

Подпись Фирстовой В.В. заверяю:
Ученый секретарь ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора
доктор биологических наук Коломбет Л.В.
142279, Оболенск,
Серпуховской р-н, Московской обл.,
тел. (4967) 36-00-03 Email: info@obolensk.org
«10» ноября 2026 г.