ОТЗЫВ

официального оппонента 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 исследования

Диссертационная работа Прокопенко Ю.А. посвящена важной и интересной теме – поиску путей создания универсальной противоменингококковой вакцины.

Вакцинация является важным методом борьбы с менингококковыми инфекциями, поскольку даже при своевременном оказании медицинской помощи летальность составляет от 8 до 15 %, а до 50 % выживших испытывают стойкие последствия заболевания, включая последствия ампутации конечностей, нейросенсорную тугоухость и нарушения нервного развития. В последние годы эпидемиологическая картина менингита претерпела существенные изменения. После пандемии COVID-19 во многих странах наблюдалось возвращение заболеваемости, при этом вследствие снижения охвата вакцинацией в период пандемии образовался «иммунный долг», что дополнительно повысило риск вспышек. Это свидетельствует о том, что угроза менингококковой инфекции остаётся реальной и может быстро реализоваться в условиях недостаточного иммунитета населения.

Однако существующие стратегии вакцинопрофилактики по-прежнему имеют ограничения. Хотя полисахаридные конъюгированные вакцины обеспечивают эффективную защиту против серогрупп A, C, W и Y, они не охватывают серогруппу B, которая является доминирующей причиной заболеваний в странах с высоким уровнем дохода. Белковые вакцины против серогруппы B, например 4CMenB, преодолели ограничения полисахаридного подхода, однако данные свидетельствуют о том, что их защитный эффект зависит от антигенной изменчивости циркулирующих штаммов. Это приводит к неполному и географически неравномерному охвату. Показано, что со временем наблюдается снижение титров антител, а влияние на носоглоточное носительство ограничено, что снижает потенциал долгосрочной защиты и косвенного иммунитета. Кроме того, в глобальном масштабе распределение серогрупп характеризуется

значительной географической и временной изменчивостью: после введения в Африканском менингитном поясе вакцины против серогруппы A доля заболеваний, вызванных серогруппами, отличными от A, включая C и W, возросла; в Европе и Северной Америке серогруппа B стала основной причиной остаточных заболеваний, а серогруппы W и Y также играют важную роль среди взрослого населения и пожилых людей. Такая динамичная и разнообразная эпидемиологическая картина делает особенно актуальной задачу разработки вакцины широкого спектра действия, способной охватить различные серогруппы. Наиболее желательным результатом является создание универсальной противоменингококковой вакцины, способной обеспечивать защиту против любого патогенного штамма менингококка независимо от серогруппы.

Объем и структура работы

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, выводов, списка литературы и приложений.

Работа изложена на 131 странице, содержит 21 рисунок, 8 таблиц, из которых 7 находятся в основном тексте и 1 в приложении, а также 2 приложения. Список литературы включает 217 источников.

Особого внимания заслуживает литературный обзор, который представляет собой систематизированный и критически осмысленный анализ современного состояния проблемы вакцинопрофилактики бактериального менингита. Автор рассмотрел существующие полисахаридные, конъюгированные, белковые и комбинированные вакцинные препараты, охарактеризовал их достоинства и принципиальные ограничения, в том числе узкую серогрупповую специфичность и недостаточную широту перекрёстной защиты. Отдельное внимание уделено перспективности IgA1-протеазы как консервативного фактора вирулентности, общего для *N. meningitidis* различных серогрупп, N. gonorrhoeae и нескольких штаммов *H. influenzae*. В обзоре подробно проанализированы данные о структурно-функциональной организации фермента, его роли в преодолении местного иммунитета слизистых оболочек, а также сведения об иммуногенности, подтверждённой у переболевших и бактерионосителей. Обзор опирается на значительный массив современных отечественных и зарубежных источников,

отличается логичностью построения и полнотой охвата материала и подводит к обоснованию цели и задач исследования.

Последующие главы, содержащие описания методик и полученные результаты, в целом написаны подробно и конкретно. Адекватность используемых экспериментальных подходов, валидность полученных результатов и доказанность выводов не вызывают сомнений.

Научная новизна и практическая значимость

Полученные результаты открывают значительные перспективы для разработки рекомбинантных белков с протективной активностью в отношении различных серотипов *N. meningitidis*.

Ю.А. Прокопенко, в своей работе, рассмотрел использование IgA1-протеазы в качестве консервативного фактора вирулентности, общий для патогенных штаммов *N. meningitidis*. В своем исследовании Ю. А. Прокопенко на основе структуры IgA1-протеазы *N. meningitidis* серогруппы B штамма H44/76 методами генной инженерии сконструированы серии рекомбинантных белков. В экспериментах на мышах BALB/c подтверждено, что два кандидатных белка, $M(W^{140}–H^{328})$-$(W^{412}–D^{604})$-$(Y^{866}–P^{1004})$-LEH_6 и $M(W^{140}–Q^{299})$-$(Y^{866}–P^{1004})$-LEH_6, индуцировали эффективный защитный ответ против менингококков серогрупп A, B и C, а также обеспечивали защиту против нескольких патогенных штаммов *Haemophilus influenzae* и *Streptococcus pneumoniae*.

Представленные в данной работе протективные антигены обеспечивали эффективную защиту лабораторных животных и перспективны в качестве действующего вещества потенциальной противоменингококковой вакцины.

Эти результаты позволяют выделить конкретных молекулярных кандидатов для разработки универсальной менингококковой вакцины, а также закладывают научную основу для преодоления ограничений существующих противоменингококковых вакцин, связанных с серогруппой и штаммовой специфичностью. Таким образом, данная диссертационная работа имеет научную ценность и практическую значимость для фундаментальной биотехнологии и общественного здравоохранения.

Замечания

По работе имеется ряд вопросов и замечаний, касающихся как проведения экспериментов, так и оформления материалов диссертации.

1. При заражении *N. meningitidis* серогруппы B через 30 дней после повторной иммунизации наблюдали одинаковое снижение уровня бактериемии под воздействием препаратов (Белок 11 + L) и (Белок 11 + L + D), однако уровень гибели модельных животных, иммунизированных этими препаратами, значительно различался. Можно ли объяснить эти различия специфическим и/или неспецифическим действием плазмидной ДНК в составе композиции? Также следует пояснить причины выбора данной плазмидной конструкции в этом эксперименте.

2. При переходе к разделу «Исследование иммуногенных и протективных свойств созданных рекомбинантных белков» вместо одного из трёх обсуждаемых ранее патогенных видов, а именно *N. gonorrhoeae*, указан другой вид: *S. pneumoniae*. В разделе результатов следовало пояснить причины и правомерность такой замены в данном экспериментальном блоке, поскольку приведённые в обзоре литературы сведения о сходстве и различиях протеаз менингококков и пневмококков не позволяют сделать однозначный вывод о необходимости проверки такой кросс-реактивности иммунного ответа.

3. На рисунках 3.2.2.2 и 4.1 при представлении результатов предсказания расположения В-клеточных эпитопов с помощью SEPPA 2.0 перепутаны обозначения для человека и мыши. В тексте опубликованной по данному вопросу статьи эта ошибка отсутствует.

Заключение

В целом работа заслуживает положительной оценки. Адекватность выбранных методических подходов и достоверность полученных результатов не вызывают сомнений. Большинство данных получено и проанализировано лично соискателем. Результаты работы опубликованы в семи рецензируемых периодических научных изданиях и доложены на научных конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

По актуальности, объёму проведенных исследований, научно-методическому уровню, новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов рецензируемая диссертационная работа полностью соответствует критериям (в том числе п. 9) «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции, со всеми изменениями Постановлений

Правительства Российской Федерации), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор - Прокопенко Юрий Анатольевич заслуживает присуждения ему искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 «Биотехнология».

Директор
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Научно-исследовательский
институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»
доктор химических наук,
профессор, профессор РАН Щекотихин Андрей Егорович

«02» ноября 2026 г.

Адрес: 119021, Россия, г. Москва,
ул. Большая Пироговская,
дом 11, строение 1
+7(499)246-9980
E-mail: shchekotikhin@mail.ru
Сайт организации: http://gause-inst.ru

Подпись Щекотихина А. Е. заверяю
Ученый секретарь, к.х.н. Кисиль Ольга Валерьевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»
Почтовый адрес: 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11, к. 1
Телефон: 8 (499) 246-99-80