О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию **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»

Разработка и быстрое внедрение вакцин против актуальных заболеваний человека в настоящее время является одной из важных задач в области борьбы с широким спектром инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной природы, а также рассматривается в качестве перспективного подхода для борьбы с онкологическими заболеваниями. При этом вакцины могут быть использованы и как меры профилактики предотвращения заражения человека, так и для лечения заболеваний.

Профилактика и лечение инфекционных заболеваний, основанные на иммунологических принципах, стали главным средством снижения детской смертности, улучшения качества жизни всех возрастных групп населения, достижения активного здоровья и увеличения продолжительности жизни людей. Поствакцинальный иммунитет обладает двумя уникальными свойствами: специфичностью и иммунологической памятью. Благодаря этому он создает прочную и длительную защиту против инфекций.

Следует отметить, что в настоящее время не существует универсальных зарегистрированных вакцин, обеспечивающих защиту от менингококковых инфекций, вызванных различными серогруппами *N. meningitidis*. Именно для *N. meningitidis* актуальность разработки поливалентных вакцин особенно высока, поскольку почти все случаи инвазивной менингококковой болезни в мире вызываются пятью серогруппами - A, B, C, W и Y, а в отдельных регионах значимой становится и серогруппа X. В России в ранее преобладала серогруппа A, затем серогруппа W, а с 2024–2025 гг. в некоторых регионах вновь лидирует A. Это подчеркивает важность многокомпонентных вакцин для широкой защиты. Несмотря на то, что поливалентные вакцины могут обеспечить более значительный эффект при массовой вакцинации, они, как правило, являются более дорогими и могут оказывать ряд побочных эффектов, что актуализирует разработку новых вариантов вакцин против широкого спектра возбудителей менингококковой инфекции.

В связи с этим, следует отметить высокую актуальность работы Ю.А. Прокопенко, посвященной исследованию иммуногенности и протективного действия различных участков первичной структуры IgA1-протеазы из *N. meningitidis* серогруппы B. На пути достижения основной цели диссертации соискателем использованы современные методы биохимии, генетической инженерии и молекулярной биологии. В ходе выполнения работы Юрий Александрович выполнил детальное исследование, направленное на создание и характеризацию новых рекомбинантных белков в качестве протективных антигенов для долгосрочной эффективной защиты организма от инфекционных заболеваний, вызываемых патогенными штаммами *N. meningitidis* и другими бактериями,

продуцирующими близкие по первичной структуре IgA1-протеазы серинового типа. Для этого был проведен анализ первичной структуры IgA1-протеаз из *N. meningitidis* различных серогрупп (A, B, C и др.) и других микроорганизмов, продуцирующих этот фермент, для выявления участков высокой степени идентичности, перспективных в качестве основы для проектирования действующего вещества, обладающего протективным антибактериальным действием; предсказана локализация эпитопов на участке зрелой IgA1-протеазы менингококка серогруппы B, требуемая для проектирования протективного противоменингококкового антигена на основе фрагментов ее первичной структуры; сконструированы и получены в рекомбинантном виде белки, включающие различные фрагменты IgA1-протеазы и обладающие меньшей молекулярной массой; изучены их иммуногенные и протективные свойства в экспериментах на мышиной модели заражения; на примере одного из рекомбинантных белков изучены противоменингококковые свойства в составе ряда протективных композиций.

Актуальность и высокая научная и практическая значимость полученных результатов подтверждается исчерпывающим списком публикаций в тематических журналах и патентом.

Диссертационная работа Ю.А. Прокопенко построена по традиционному принципу, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 131 странице, содержит 21 рисунок, 8 таблиц и 2 приложения. Библиография включает 217 литературных источников.

Во введении описаны актуальность исследования, его научная новизна, практическая ценность, а также цель и задачи диссертационной работы. Обзор данных литературы исчерпывающе описывает область исследований и дает полное представление о возбудителях менингитов, патогенности и вирулентности менингококков, особенностях IgA1-протеазы, а также современных подходах к вакцинированию инфекционных заболеваний. Следует отметить, что обзор написан хорошим литературным языком и содержит всю необходимую информацию для восприятия результатов данной диссертационной работы.

В экспериментальной части подробно описаны методики, использованные диссертантом в его работе. В целом, данный раздел свидетельствует о высокой квалификации и прекрасной методической подготовке Ю.А. Прокопенко.

Глава «Результаты» представляет собой поэтапное структурированное представление итогов работы и содержит 5 блоков, посвященных BLAST анализу целевых последовательностей, выбору эпитопов, наработке и очистке рекомбинантных белков, исследованию иммуногенных и протективных свойств созданных рекомбинантных белков и выбору адъювантов. Глава «Обсуждение», в целом, представляет собой обобщающее описание всех полученных результатов и используется соискателем для формулирования заключений по каждому из блоков полученных результатов.

Следует отметить, что все описанные результаты являются оригинальными, ярко отражают новизну и практическую значимость данной работы. Сформулированные выводы работы основаны на результатах проведенных экспериментов. В целом достоверность результатов работы и обоснованность выводов не вызывают сомнения.

Материалы диссертационной работы опубликованы в 7 статьях, а практическая значимость полученных результатов подтверждается патентом. Результаты работы докладывались на конференциях. Публикации по итогам работы и автореферат в полной мере отражают основное содержание диссертации.

Подводя итог, необходимо отметить, что полученные в данной работе результаты, несомненно, являются значительным шагом для разработки перспективных вариантов рекомбинантных белков, обладающих протективным антибактериальным действием в отношении различных серотипов *N. meningitidis*.

Тем не менее, к работе есть несколько вопросов и замечаний, которые можно разделить на технические, связанные с оформлением материалов диссертации, и экспериментальные.

- В тексте следовало дать пояснения по выбору нумерации создаваемых рекомбинантных белков. По-видимому, их общее число было не менее 13, тогда как в тексте представлены данные о структуре и свойствах лишь для вариантов 9, 10, 4, 8, 3, 11 и 13 (в порядке указанном соискателем).

- С использованием AlphaFold-моделей соискателем показано, что отобранные фрагменты, формирующие укороченные белки, сохраняют третичную структуру, характерную для соответствующих участков зрелой IgA1-протеазы. Однако в работе не представлены данные об экспериментальной проверке наличия каких-либо структурированных элементов в полученных рекомбинантных препаратах описываемых белков, что особенно важно с учетом использования денатурирующих условий на стадиях хроматографической очистки данных белков.

- Зрелая IgA1-протеаза из *N. meningitidis* серогруппы B штамма H44/76 была использована для поиска подобных белков, кодируемых в геномах *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae* и *H. influenzae*. В диссертации указано, что кроме трех вышеназванных микроорганизмов данный фермент никакой другой организм не продуцирует. Однако, в связи с возможным развитием кросс-реактивности, в том числе продемонстрированной в данной работе в отношении *S. pneumoniae*, было бы интересно выполнить анализ вероятности появления такого эффекта, в том числе за счет отдельных эпитопов IgA1-протеазы, и в отношении других патогенных микроорганизмов, а также непатогенных микроорганизмов.

Необходимо отметить, что все указанные недочеты никоим образом не снижают общего высокого уровня работы, которая является высококлассным научным исследованием. Анализ диссертационной работы Ю.А. Покровского свидетельствует о

том, что, без сомнения, результаты работы служат важнейшим шагом по созданию перспективных вариантов вакцин против менингококковой инфекции, вызванной широким спектром серотипов *N. meningitidis*.

Таким образом, по актуальности темы, объему, новизне полученных результатов и их научной и практической значимости диссертационная работа Покровского Юрия Александровича соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, в соответствии с пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (со всеми изменениями Постановления Правительства Российской Федерации), а сам диссертант заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – «Биотехнология».

Официальный оппонент

Кузнецов Никита Александрович, д.х.н., член-корр. РАН, заведующий лабораторией генетических технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)

«8» октября 2026 г.

Почтовый адрес: 630090, Новосибирск, пр-кт Ак. Лаврентьева, д. 8

Телефон: 8 (383) 363-51-75

E-mail: nikita.kuznetsov@1bio.ru

Подпись Н.А. Кузнецова удостоверяю

Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН, к.б.н. _____ / Е.Б. Логашенко /

м.п.

08 октября 2026 г.