

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

комиссии диссертационного совета 64.1.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Карцевой Алены Сергеевны на тему «Механизмы иммунитета при экспериментальной туляремии на мышинной модели», выполненной в лаборатории молекулярной биологии Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.6. Биотехнология и 1.5.11. Микробиология

Соответствие соискателя ученой степени требованиям, необходимым для допуска к защите. Карцева А.С. соответствует требованиям, изложенным в п. 3 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.: имеет высшее образование, подтвержденное дипломом Челябинского государственного университета по специальности «Микробиология», выполнила диссертационную работу на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН ГНЦ ПМБ), давшего положительное заключение по данной диссертации; сдала кандидатские экзамены, что подтверждает предоставленный диплом об окончании аспирантуры ФБУН ГНЦ ПМБ и справка, выданная Московским научно-исследовательским институтом эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского.

Соответствие диссертации специальности, по которой совету предоставлено право защиты. Диссертация Карцевой А.С. выполнена под руководством доктора биологических наук Фирстовой Виктории Валерьевны (специальность 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология) на современном научно-методическом уровне с использованием микробиологических, биотехнологических, биологических, иммунологических, цитометрических и статистических методов исследования. Члены комиссии считают, что диссертация Карцевой А.С. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», паспортам специальностей 1.5.6. Биотехнология по пункту 1 «Генетические, селекционные и иммунологические исследования в прикладной микробиологии, вирусологии и цитологии» и 1.5.11. Микробиология по пункту 10 «Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором. Выполнение требований к публикации основных научных результатов диссертации. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях, 1 База данных, 1 статья в прочих изданиях и 12 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций, что является вполне достаточным для проведения защиты.

Личное участие автора заключалось в анализе научной литературы, разработке дизайна научного исследования, выполнении микробиологических, биологических, иммунологических, цитометрических исследований, в статистическом анализе полученных результатов и подготовке материалов для публикаций, в представлении устных и постерных докладов на конференциях. Отдельные разделы работы выполнены совместно с д.б.н. Павловым В.М., д.м.н. Мокриевичем А.Н., к.м.н. Титаревой Г.М., к.б.н. Комбаров Т.И., к.б.н. Калмантаевой О.В., н.с. Мироновой Р.И., н.с. Вахрамеевой Г.М. и м.н.с. Силкиной М.В. На защиту вынесены только те положения и результаты экспериментов, в получении которых роль автора была определяющей. Присвоения авторства чужого научного труда (плагиата), результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства, в данной диссертации не обнаружено.

Диссертация изложена на 172 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, включающего 32 работы отечественных и 250 работ зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 30 рисунками и 5 таблицами, включает 1 Приложение.

Актуальность выбранной темы исследования обусловлена тем, что на территории России существуют природные очаги туляремии, что определяет повышенное внимание к этой инфекции. Несмотря на проводимую в эндемичных районах вакцинопрофилактику, ежегодно отмечаются спорадические случаи заболевания среди населения, в отдельные годы носящие характер вспышек. В настоящее время эффективную защиту против туляремии обеспечивают только живые вакцины, полученные на основе аттенуированных штаммов *Francisella tularensis*. В Российской Федерации используется живая туляремиальная вакцина *F. tularensis* 15 НИИЭГ, в странах Европы и Северной Америки - штамм *F. tularensis* LVS, производный от вакцинного штамма 15 НИИЭГ. Существующие вакцинные штаммы способны индуцировать формирование напряженного иммунитета против туляремии, однако неясный механизм аттенуации штаммов, их генетическая нестабильность и относительно высокая реактогенность, особенно для людей с иммунодефицитным состоянием, делают

актуальной задачу создания безопасной живой туляремийной вакцины с улучшенными свойствами.

Современные молекулярно-генетические методы позволяют изучать основы патогенности туляремийного микроба и целенаправленно снижать вирулентность бактерий при конструировании вакцинного штамма с улучшенными свойствами за счёт делеций и модификаций определенных генов. Важным условием успешного конструирования вакцинных штаммов является наличие объективных иммунологических критериев оценки протективности. Известно, что ключевым звеном в формировании защиты организма от внутриклеточных бактерий *F. tularensis* является специфический Т-клеточный иммунитет, который определяет основу длительного протективного иммунитета при последующем заражении вирулентным штаммом. Оценка специфического Т-клеточного ответа является технически сложной задачей, поскольку Т-клетки являются гетерогенной популяцией лимфоцитов, и их функциональная активность опосредуется различными механизмами, включая секрецию цитокинов, цитоллиз инфицированных клеток и формирование иммунологической памяти. Иммунизация мышей штаммом *F. tularensis* LVS приводит к индукции синтеза специфических антител и пулов антиген-специфичных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Один из известных защитных механизмов противотуляремийного Т-клеточного иммунитета включает продукцию широкого спектра цитокинов, в частности, IFN-γ и TNF-α. Однако относительный вклад субпопуляций Т-клеток и уровень их функциональной активности, необходимый для формирования протективного иммунитета против туляремии, до конца не изучен. Комплексных исследований по изучению показателей клеточного иммунного ответа, индуцированного вакцинным штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ, и оценки взаимосвязи между иммунологическими параметрами и протективной эффективностью в отдаленные поствакцинальные сроки не проводилось.

Поэтому исследования, направленные на изучение клеточных механизмов протективного иммунитета при моделировании экспериментальной туляремии, сохраняют актуальность для рациональной разработки противотуляремийных вакцин.

Цель работы – изучить клеточные механизмы иммунного ответа у мышей на вакцинацию штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ и его производными и установить их роль в формировании протективного иммунитета против природных туляремийных штаммов.

Научная новизна полученных результатов заключается в том, что использованные в работе модификации генома *F. tularensis* (в генах *iglC*, *recA* и *sodB*) не влияют на напряженность и длительность иммунитета, но при этом снижают реактогенность рекомбинантных штаммов *F. tularensis* 15/23-1Δ*recA* и *F. tularensis* 15/23-1/*sodB*Δ*recA*, по сравнению с исходным вакцинным штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ, о чем

