

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Вагайской Анастасии Сергеевны
на тему: «Бактериальные тени *Yersinia pestis*», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальностям:
1.5.11. Микробиология, 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы исследования

Чума, одно из самых страшных инфекционных заболеваний в мире, до разработки вакцин уносила сотни миллионов человеческих жизней. Однако имеющиеся вакцинные препараты имеют значительные ограничения и не лицензированы в связи с несоответствием требованиям ВОЗ. Поэтому все чаще взгляды исследователей обращаются в сторону технологии конструирования полиантигенных вакцин на основе «бактериальных теней», то есть пустых бактериальных оболочек, содержащих антигенные маркеры, характерные для жизнеспособных микробных клеток. Опыт успешного использования указанной технологии был успешно применен при производстве вакцин против вибрионов, сальмонелл, бордетелл, а также представителей рода - *Yersinia enterocolitica*.

В связи с описанным выше необходимо конструирование бактериальных теней чумного микроба, которое позволит оценить перспективность использования данной технологии для разработки прототипов инактивированной чумной вакцины, способной защитить от гибели несколько видов лабораторных животных.

Поэтому **целью** диссертационного исследования Вагайской А.С. стало конструирование и оценка протективной активности бактериальных теней *Yersinia pestis*. В соответствии с поставленной целью были сформулированы пять задач исследования, которые были успешно решены в ходе выполнения диссертационной работы, что нашло отражение в соответствующих выводах.

Достоверность полученных результатов, выводов и положений не вызывает сомнений и подтверждается достаточным количеством исследуемого материала, использованием современных методов исследования. Все полученные автором результаты статистически обработаны с помощью современных компьютерных программ, выбор метода обработки соответствовал объему и формату проведенных исследований. Положения и выводы основаны на достоверных статистических данных.

Научная новизна исследования и полученных результатов

- Автором исследования впервые сконструирован набор литических плазмид, включающих различные комбинации гена белка Е бактериофага φX174 с кассетами литических генов систем «холин-эндолизин» бактериофага λ или чумного диагностического бактериофага Л-413С.
- Впервые получены бактериальные тени с различной степенью редукции пептидогликана клеточной стенки. Установлена наименьшая литическая способность белка Е бактериофага φX174 и максимальная степень деструкции

пептидогликана после воздействия холина и эндолизина чумного диагностического бактериофага Л-413С или комбинации белка Е, холина и эндолизина бактериофага Л-413С.

- Автором впервые установлен факт зависимости уровня протективной активности препарата в отношении морских свинок, коррелирующего со значительным повышением уровней IFN- γ в спленоцитах животных, иммунизированных препаратом УК-БТ и особенно ЕУК-БТ, от гидролиза пептидогликана в составе бактериальных теней чумного микроба.
- Впервые установлено, что моделирование бубонной чумы у беспородных мышей в условиях УББ 2 лаборатории путем подкожного введения штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ и декстрана железа можно использовать для изучения протективности кандидатных вакцинных препаратов на ранних стадиях разработки.

Значимость для науки и практики полученных результатов

- Автором исследования получены новые данные о специфичности противочумного иммунитета, индуцированного введением препаратов бактериальных теней из штамма чумного микроба, а также влияния степени редуцированности пептидогликана клеточной стенки микроба в составе БТ на напряженность формируемого иммунного ответа у морских свинок.
- Предложен новый морфотип БТ – «бактериальные мешочки», характеризующийся отсутствием пептидогликанового каркаса, и выдвинута гипотеза механизмов его формирования.
- В результате проведенной работы обоснован компонентный состав прототипа чумной полигостальной вакцины, включающей препарат БТ из бесплазмидного аттенуированного штамма *Y. pestis* КМ 260(12) Δ lpxM/pEYR-E-Y-K и иммунодоминантные антигены чумного микроба – капсульный антиген F1 (Caf1) и V антиген (LcrV).
- Подготовлены методические рекомендации «Получение бактериальных теней из аттенуированных штаммов *Yersinia pestis*» (утверждены директором ФБУН ГНЦ ПМБ 31.05.2023 г., протокол № 3) (учрежденческий уровень внедрения).
- Депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (п. Оболенск Московской обл.) семь охарактеризованных штаммов *Y. pestis* и *Escherichia coli*, необходимых для производства вакцин на основе БТ.
- Материалы диссертационной работы используются при подготовке кадров высшей квалификации (аспирантуре) и для слушателей курсов профессиональной переподготовки и повышения квалификации ФБУН Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора при чтении лекций и проведении практических занятий в рамках основной профессиональной образовательной программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по

направлению 15.1. – Биологические науки, профиль 15.1.11. – микробиология и программы дополнительного профессионального образования «Микробиология. Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности».

Рекомендации по использованию полученных результатов и выводов диссертационной работы

Приведенные в диссертации Вагайской А.С. результаты, выводы и практические рекомендации могут быть использованы в работе научно-исследовательских, производственных, образовательных учреждений:

- Созданный набор плазмид с различными комбинациями гена белка E фага φX174 и кассетами литических генов систем «холин-эндолизин» фагов λ или Л-413С, обеспечивающих различную степень деструкции клеточной стенки, целесообразно использовать для образования теней энтеробактерий.
- Бактериальные тени чумного микроба рекомендуется включать в состав субъединичного вакцинного препарата для профилактики чумы.
- Атенуированные ΔprgM штаммы *Y. pestis* в присутствии коллоидного железа могут в условиях лаборатории УББ 2 заменить штаммы «дикого» типа для моделирования бубонной чумы с выраженными патологоанатомическими изменениями и летальностью у мышей

Степень освещенности основных результатов диссертационной работы

По теме диссертационного исследования опубликовано 13 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и 8 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

Соответствие автореферата и основных результатов диссертационного исследования

Автореферат соответствует содержанию диссертации, выполнен согласно требованиям ВАК, предъявляемым к его структуре и содержанию, отражает основные результаты и положения, приводимые в диссертационной работе.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Вагайской Анастасии Сергеевны на тему: «Бактериальные тени *Yersinia pestis*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология, 1.5.6. Биотехнология, является законченной научно-квалификационной работой, которая содержит решение актуальной задачи – конструирование и оценку протективной активности бактериальных теней *Yersinia pestis*, что имеет важное научно-практическое значение для микробиологии, биотехнологии, здравоохранения.

Диссертация Вагайской А.С. соответствует критериям пп. 9-14, 16 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., в редакции постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., №1168 от 01.10.2018 г., №751 от 26.05.2020 г., № 426 от 20.03.2021 г., № 1539 от 11.09.2021 г., № 1690 от 26.09.2022 г. и № 101 от 26.01.2023 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор Вагайская Анастасия Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология, 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв составил:

Заведующая лабораторией медицинской бактериологии
«Санкт-Петербургского научно-исследовательского института
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека,

доктор медицинских наук

Людмила Александровна Краева

Подпись д.м.н. Л. А. Краевой заверяю:

Ученый секретарь
«Санкт-Петербургского научно-исследовательского института
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека

кандидат медицинских наук



Галина Федоровна Трифонова

11 декабря 2023 г.

Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира 14
Телефон: 8 (812) 498 09 39, E-mail: lykraeva@yandex.ru