

**Отзыв на автореферат диссертации
Жеребцова Антона Павловича «Получение рекомбинантного
флагеллина *Pseudomonas aeruginosa* и исследование его
иммунобиологических свойств»,**

**представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук по специальности 1.5.11. Микробиология**

Pseudomonas aeruginosa (синегнойная палочка)- условно-патогенная грамотрицательная подвижная неспорообразующая бактерия, входящая в группу, объединенную термином «**ESCAPE**»(ранее **ESKAPE**) (от англ. «*escape*» —«ускользать, избегать»), используемым для обозначения группы бактерий, которые эффективно «ускользают» от воздействия антибактериальных препаратов и представляют серьезную проблему из-за роста уровня и спектра антибиотикорезистентности. Кроме того, хорошо известно, что *P. aeruginosa* является основным возбудителем госпитальных инфекций за счет способности формировать биопленки на биотических и абиотических поверхностях, вызывая тяжелые длительные хронические инфекции, трудно поддающиеся лечению. Все это обуславливает актуальность разработки препаратов для иммунопрофилактики и иммунотерапии заболеваний, вызываемых данным микроорганизмом.

Исследования по созданию противосинегнойной вакцины активно проводятся с середины XX века. В основе таких препаратов могут быть живые аттенуированные клетки *P. aeruginosa*, липополисахариды, поверхностные полисахариды, полисахарид - белковые конъюгаты, белки жгутика, белки наружной мембраны, пили, экстракты белков клеточной стенки, слитые белки и синтетические пептиды, несущие протективные эпитопы различных звеньев врожденного иммунитета. В настоящее время в качестве перспективного адъюванта рассматривают жгутиковый антиген флагеллин (FliC). Он является основным структурным компонентом жгутика бактерий и агонистом TLR5 врожденной иммунной системы. Показано, что использование высококонсервативных доменов флагеллина *Salmonella*

typhimurium, в качестве молекулярного адъюванта в составе вакцины повышает экспрессию молекул CD80, CD83, CD86 и МНСII на поверхности дендритных клеток, приводит к увеличению секреции ИФН- γ и α -дефенсинов дендритными и NK-клетками; Т-клеточную пролиферацию и активацию антигенспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов, а также повышенную индукцию антиген-специфических IgG и IgA антител. Преимуществом флагеллина является возможность его применения в виде гибридных белков в составе fusion-вакцин совместно с рекомбинантными антигенами. Данный подход был использован при исследовании ДНК-вакцины, предназначенной для профилактики и лечения COVID-19, в состав которой входит ген, кодирующий белок SARS-CoV-2 S1, слитый с рекомбинантным флагеллином *S. Typhimurium* и полученные данные, указывающие на наличие долгосрочного гуморального иммунитета у мышей после иммунизации данной вакциной.

Целью работы автора диссертации и было получение рекомбинантного флагеллина *P. aeruginosa* и исследование его иммунобиологических свойств. В литературе, конечно, имеются данные о клонировании гена флагеллина из различных штаммов бактерий, в частности *P. aeruginosa* PAO1, 8821M и M2. Однако, несмотря на то, что рекомбинантный флагеллин синегнойной палочки получали и ранее, иммунобиологические свойства изучены не для всех полученных генно-инженерным путём белков. Кроме того, способы получения этих белков существенно различаются (используются разные векторы и схемы очистки).

В данной работе рекомбинантный белок флагеллин FliC из референсного штамма PA-103, который обладает многочисленными факторами патогенности (например, экзотоксином А), получен впервые. Значение флагеллина *P. aeruginosa*, как фактора патогенности, в развитии синегнойной инфекции, показывает целесообразность создания вакцины, содержащей в своем составе рекомбинантный флагеллин для стимуляции специфического иммунитета. Кроме того, иммуностимулирующие домены

флагеллина возможно использовать не только в составе антисинегнойной вакцины, но и применять как адъювант в рецептуре иммунных препаратов против других патогенов. Однако, в настоящее время, несмотря на многочисленные исследования, иммуногенный и адъювантный потенциал флагеллина *P. aeruginosa* остаются до конца не изученными.

В лаборатории протективных антигенов ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова проведены эксперименты по созданию противосинегнойной вакцины, получен ряд рекомбинантных белков OprF, OprI, делеционный вариант экзотоксина А (aTox), а также слитые конструкции, проявляющие защитные свойства от экспериментальной синегнойной инфекции. Дальнейшие исследования, направленные на подбор адъюванта, являются необходимым условием для обеспечения формирования более выраженного и длительного иммунного ответа при вакцинации.

Перспективным кандидатом на эту роль может стать флагеллин *P. aeruginosa*, который является лигандом для рецептора врожденной иммунной системы, что обосновывает целесообразность его применения в составе экспериментального вакцинного препарата. Таким образом, детальное изучение иммунобиологических свойств рекомбинантного белка флагеллина *P. aeruginosa* позволит определить его иммуногенный потенциал и способность индуцировать протективный иммунитет.

Последовательно и логично с применением современных и адекватных методов исследования это и сделано в рецензируемой работе Жеребцова А.П.: впервые сконструирован штамм-продуцент *E. coli* pQE-30-FliC рекомбинантного белка флагеллина *P. aeruginosa* с использованием генно-инженерных технологий; *in vitro* и *in vivo* выявлены защитные свойства рекомбинантного белка FliC на модели экспериментальной синегнойной инфекции у мышей; продемонстрированы адъювантные возможности рекомбинантного белка FliC при сочетанном введении с поверхностным антигеном *K. Pneumoniae*; установлено что сыворотки полученные в

результате иммунизации мышей рекомбинантным белком флагеллином *P. aeruginosa* подавляют зону роста и биопленкообразование *P. Aeruginosa*; получены три гибридомы - продуцента моноклональных антител, взаимодействующие с одним участком молекулы рекомбинантного белка FliC, и показана перспектива их использования в ИФА, для детекции антигена. Полученные автором результаты доложены на конференциях различного уровня и подтверждены соответствующими публикациями и патентом Российской Федерации № 2793753 С1 от 05.04.2023.

Диссертационная работа Жеребцова Антона Павловича «Получение рекомбинантного флагеллина *Pseudomonas aeruginosa* и исследование его иммунобиологических свойств» соответствует полностью требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г., приказом №1085/Р от 10 июля 2025 г.), , предъявляемым к КАНДИДАТСКИМ диссертациям, а ее автор, Жеребцов Антон Павлович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности – 1.5.11. Микробиология.

Доктор биологических наук, профессор
Ведущий научный сотрудник ФГБУ
«Национальный Исследовательский Центр
Эпидемиологии и Микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ

02.06.2026 г.

Романова Юлия Михайловна

Адрес: Москва 123098 улица Гамалеи 18, тел. 8-499-1893-30-01

E-mail: genes2007@yandex.ru

Телефон: 8-916-160-48-75, раб. 8-499-190-44-52

Подпись Романовой Ю.М. заверяю.

Ученый секретарь Центра, к.б.н.

