

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертационной работы Руниной Анастасии на тему
«Новые рекомбинантные белки – антигены *Treponema pallidum* для
серологической диагностики сифилиса», представленной на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.02.03 – микробиология.**

Диссертация Руниной Анастасии посвящена актуальной теме изучения серореактивных белков в протеоме возбудителя сифилиса *Treponema pallidum*. Данная тематика напрямую связана с задачами совершенствования диагностики сифилиса, в частности, совершенствования трепонемных серологических исследований. Основным условием для проведения таких исследований является применение белков *T. pallidum*, антитела к которым присутствуют в крови больных сифилисом. Получение нативных белков бледной трепонемы ограничено возможностью культивировать данную бактерию только в живых организмах (лабораторных кроликах), что является трудоемким и дорогостоящим процессом и не дает возможности характеризовать антитела к отдельным антигенам. Однако данная задача решается применением технологии рекомбинантных белков. Клонирование кодирующих последовательностей в экспрессионные векторы и получение соответствующих белковых молекул в штаммах *E. coli* является рутинным лабораторным методом с высокой эффективностью, точностью и воспроизводимостью результатов. Именно применение рекомбинантных белков позволяет охарактеризовать присутствие антител к отдельному белку в сыворотке крови больных различными формами сифилиса.

В ходе выполнения работы диссидентом проведен большой объем исследований, включающий в себя отбор белков *T. pallidum*, перспективных в качестве антигенов для определения специфических антител, клонирование и получение экспрессионных векторов, создание продуцентов рекомбинантных аналогов отобранных белков, получение и проверку соответствующих рекомбинантных белков на образцах сыворотки больных сифилисом, а также характеристику диагностических параметров для каждого из исследуемых белков. Далее был сконструирован иммуночип, содержащий новые разработанные белки и уже применяемые антигены для серодиагностики сифилиса.

Новизна диссертационной работы Руниной А. не вызывает сомнения и заключается в предложенном списке новых потенциальных диагностических антигенов, антитела к которым выявляются при различных формах сифилиса, что подтверждает целесообразность их применения в разработке новых серологических тестов (акт внедрения ООО «Биочип ИМБ» №54/04-10/2018 от 04.10.2018). Выбор способа проведения серологических реакций с предложенной панелью антигенов (биочип/

иммуночип) отвечает современным направлениям развития методов лабораторной диагностики. Предложенный способ определения антител к панели из 10 антигенов *T. pallidum* защищен патентом на полезную модель (№181902(У1) от 26.07.2018).

Разработка новых антигенов для анализа антител у больных сифилисом несет в себе как теоретическую, так и практическую (в т.ч. для акушеров-гинекологов) значимость. Описание белков, участвующих в качестве антигенов в иммунном ответе на присутствие в организме бледной трепонемы дополняет фундаментальные знания об иммуногенных белках и их локализации в клетке, что, в свою очередь, позволит определить роль отдельных белков *T. pallidum* в её персистировании в организме человека, и их экспрессии на разных этапах прогрессирования данного заболевания.

Практическое значение расширения спектра предлагаемых в качестве антигенов рекомбинантных белков *T. pallidum* заключается в возможности повысить чувствительность и диагностическую эффективность новых разрабатываемых серологических тестов на сифилис. Важным этапом в этой связи является депонирование шести штаммов *E. coli* с экспрессионными векторами для рекомбинантных белков *T. pallidum* в Национальном биоресурсном центре «Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов» при ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов». В качестве значимого дополнения возможностей серологических тестов стоит также отметить и предложенное автором статистическое прогнозирование формы раннего или позднего скрытого сифилиса в зависимости от представленных антител в сыворотке крови пациента.

Представленная исследовательская работа выполнена на современном методическом уровне. Полученные результаты достоверны и подтверждены на каждом из этапов исследования, статистические методы анализа соответствуют характеру анализируемых данных, выводы логично вытекают из полученных результатов, положения, выносимые на защиту, отражают в полной мере поставленные задачи. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению реферата нет.

По материалам диссертации представлено 9 научных статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получен патент РФ на полезную модель и акт внедрения разработки в практическое применение.

Заключение. Диссертационная работа Руиной Анастасии на тему «Новые рекомбинантные белки – антигены *Treponema pallidum* для серологической диагностики сифилиса» по своей актуальности, новизне, практической значимости и объему проведенных исследований соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, положения «О присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской

Федерации №842 от 24.09.2013г. в редакции постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г., №1024 от 28.08.2017, №1168 от 01.10.2018 г.), а ее автор достоин присуждения степени кандидата наук по специальности 03.02.03 – микробиология (биологические науки).

Профессор кафедры акушерства и гинекологии имени С.Н. Давыдова
ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России
доктор медицинских наук, доцент

Рищук Сергей Владимирович

Адрес Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации:
191015, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41. Тел: (812) 303-50-00. e-mail: rectorat@szgmu.ru, s.rishchuk@mail.ru

Подпись профессора кафедры акушерства и гинекологии имени С.Н. Давыдова ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России доктора медицинских наук, доцента С.В. Рищука заверяю.

Учёный секретарь ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России
д.м.н. профессор

Н.В.Бакулина

