

**Заключение Комиссии диссертационного совета Д 208.046.01 при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Дятловой Варвары Ивановны «Получение рекомбинантных и синтетических антигенов *Mycobacterium tuberculosis* и перспективы их использования для серодиагностики туберкулеза» по специальности 03.02.03 – микробиология**

Научный руководитель:

Бикетов Сергей Федорович - заведующий отделом иммунобиохимии патогенных микроорганизмов Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ПМБ), кандидат биологических наук.

Работа Дятловой В. И. соответствует специальности 03.02.03 – микробиология (медицинские науки).

Работа посвящена изучению перспектив использования серодиагностики для выявления туберкулеза на территории Российской Федерации. В ходе проведенного исследования Дятловой В.И. была впервые показана возможность получения ряда антигенов *Mycobacterium tuberculosis* в экспрессионной системе *Pichia pastoris* с целью дальнейшего использования их в качестве основного компонента серодиагностического теста на туберкулез. Установлено, что серодиагностический потенциал белков, экспрессированных в дрожжевой системе *Pichia pastoris*, выше, чем у аналогичных белков, экспрессированных в системе *Escherichia coli*, что свидетельствует о том, что применение системы *Pichia pastoris* для получения антигенов *Mycobacterium tuberculosis* может повысить эффективность серодиагностики туберкулеза. Выявлены новые данные о конъюгатах рекомбинантных белков с углеводными молекулами, а именно, показано, что химическое конъюгирование ряда белков *Mycobacterium tuberculosis*, экспрессированных в системе *Escherichia coli*, с синтетическим гексаарабинофуранозидом липоарабиноманнана приводит к повышению чувствительности ИФА с сыворотками больных туберкулезом, и, следовательно, является перспективным методом повышения эффективности серодиагностики туберкулеза. Автором были получены данные о серодиагностическом потенциале 24 рекомбинантных и синтетических антигенов *Mycobacterium tuberculosis*, которые могут учитываться при разработке новых серотестов на туберкулез. Результаты работы свидетельствуют о том, что наиболее перспективным подходом совершенствования серодиагностики туберкулеза является создание мультиантигенного теста, включающего композицию из нескольких рекомбинантных и синтетических антигенов *Mycobacterium tuberculosis*.

Теоретической значимостью работы является то, что разработана научно обоснованная концепция получения рекомбинантных антигенов *Mycobacterium tuberculosis*, пригодных для использования в серодиагностике туберкулеза и определена значимость различных способов гликозилирования белковых антигенов *Mycobacterium tuberculosis* для их иммунореактивности в серологических тестах, что расширяет представления о роли углеводных эпитопов в иммунном ответе при туберкулезе.

Практическая значимость заключается в том, что показана возможность использования дрожжевой системы экспрессии *Pichia pastoris* для получения рекомбинантных белков *Mycobacterium tuberculosis*, пригодных для серодиагностики туберкулеза; применяемые в работе лабораторные методы для получения ряда антигенов *Mycobacterium tuberculosis* в дрожжевой системе экспрессии *Pichia pastoris* могут быть легко масштабированы, что создает основу для массового производства недорогих и эффективных туберкулезных серотестов. Установлено, что химическое конъюгирование рекомбинантных белков *Mycobacterium tuberculosis* с синтетическим гексаарабинофуранозидом липоарабиноманнана является перспективным методом повышения эффективности серодиагностики туберкулеза. Результаты работы свидетельствуют о том, что наиболее перспективным подходом совершенствования серодиагностики туберкулеза является создание мультиантигенного теста, включающего композицию из нескольких рекомбинантных и синтетических антигенов *Mycobacterium tuberculosis*, а также подобрана мультиантигенная композиция из рекомбинантных и синтетических антигенов *Mycobacterium tuberculosis*,

обладающая высокой прогностической эффективностью, для выявления больных туберкулезом в Саратовской области.

Результаты работы были использованы при разработке иммунохроматографических тестов для серодиагностики микобактериозов, в частности, туберкулеза и лепры (акт внедрения от 1.12.2014 г.).

Работа выполнена с применением современных методов исследования, адекватных поставленным задачам. Представленные результаты являются достоверными, так как был проведен достаточный объем исследований. Научные положения и выводы, сформулированные Дятловой В.И., логически вытекают из результатов проведенных исследований.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Согласие оппонентов и ведущей организации имеются.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на Научно-практической школе-конференции молодых учёных и специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации «Биологическая безопасность в современном мире» (21-22 апреля 2009 г., Оболенск) и на VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2010» (24-26 ноября 2010 г., Москва).

По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, включенных в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

1. Литвинов Виталий Ильич - доктор медицинских наук, профессор, Академик РАМН, Заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель Государственного казённого учреждения здравоохранения «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы».

2. Тутельян Алексей Викторович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора.

**Заключение: комиссия диссертационного совета рекомендует диссертацию Дятловой Варвары Ивановны «Получение рекомбинантных и синтетических антигенов *Mycobacterium tuberculosis* и перспективы их использования для серодиагностики туберкулеза» по специальности 03.02.03 – микробиология к приему к защите.**

Заключение подготовили члены Диссертационного совета:


Председатель комиссии

Доктор медицинских наук, профессор  Афанасьев Станислав Степанович

Доктор медицинских наук

 Борисова Ольга Юрьевна

Доктор медицинских наук, профессор

 Митрохин Сергей Дмитриевич

Доктор медицинских наук, профессор

 Несвижский Юрий Владимирович

Доктор биологических наук

 Лахтин Владимир Михайлович