

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 14 мая 2015 г. № 2

О присуждении Дятловой Варваре Ивановне, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Получение рекомбинантных и синтетических антигенов *Mycobacterium tuberculosis* и перспективы их использования для серодиагностики туберкулеза» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 05.03.2015 г., протокол № 3 диссертационным советом Д 208.046.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О совете по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 года, приказ № 219/нк от 5.03.2015г., част. изм.

Соискатель - Дятлова Варвара Ивановна, 1984 года рождения. В 2007 году окончила Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации. В 2010 году окончила аспирантуру по специальности «биохимия» в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Работает в должности младшего научного сотрудника отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертация выполнена в отделе иммунобиохимии патогенных микроорганизмов в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель – кандидат биологических наук (03.04.01 - биохимия) Бикетов Сергей Федорович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел иммунобиохимии патогенных микроорганизмов, заведующий отделом.

Официальные оппоненты: Литвинов Виталий Ильич - доктор медицинских наук, профессор, Академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, Государственное казённое учреждение здравоохранения «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулёзом Департамента здравоохранения города Москвы», научный руководитель центра; Тутельян Алексей Викторович - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, заведующий лабораторией - дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А. Н. Баха Российской академии наук (ИНБИ РАН), г. Москва - в своем положительном заключении, подписанном Макаровым Вадимом Альбертовичем, д. фарм. н., лаборатория биомедицинской химии, заведующий, указала, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для развития микробиологии - предложены подходы для модернизации методов серодиагностики туберкулеза, которые будут способствовать совершенствованию технологий производства серодиагностических тест-систем и повышению эффективности скрининговых обследований населения на туберкулез.

Соискатель имеет 5 печатных работ, все по теме диссертации, из которых 3 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях и 2 тезиса – в материалах конференций, общим объемом 25 страниц с авторским вкладом 13,4 страниц. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации: 1. Абронина, П. И. Синтез ковалентных конъюгатов гексаарабинофуранозида с белками и их тестирование в качестве антигенов для серодиагностики туберкулеза / П. И. Абронина, Н. М. Подвальный, Т. М. Мельникова, А. И. Зинин, К. Г. Федина, В. В. Качала, В. И. Торгов, Л. О. Кононов, Е. А. Панфёрцев, Е. В. Баранова, В. В. Мочалов, В. И. Дятлова, С. Ф. Бикетов // Известия академии наук. Серия химическая. – 2010. - № 12. - С. 2276-2280; 2. Дятлова, В. И. Оценка серодиагностического потенциала 18 рекомбинантных и синтетически модифицированных антигенов *Mycobacterium tuberculosis* / В. И. Дятлова, П. И. Абронина, А. Г. Богун, Л. О. Кононов, Т. М. Мельникова, В. В. Мочалов, Е. А. Панфёрцев, Н. М. Подвальный, С. Ф. Бикетов //

Биотехнология. – 2013. - №6. - С.78-86; 3. Дятлова, В. И. Оценка серодиагностического потенциала рекомбинантных антигенов *Mycobacterium tuberculosis*, полученных в разных экспрессионных системах / В. И. Дятлова, А. Г. Богун, С. Ф. Бикетов // Биотехнология. – 2014. - № 1. - С. 72-78.

На диссертацию и автореферат поступило 3 положительных отзыва без замечаний от: 1) к.б.н. Шемчуковой О. Б., заведующей отделом гибридных технологий ОАО «Всероссийского научного центра молекулярной диагностики и лечения», г. Москва; 2) к.б.н. Белоусовой Ю. В., генерального директора ООО «Биалекса», г. Москва; 3) д.б.н. Каратаева Г.И., заведующего лабораторией генетики бактерий Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России. В отзывах отмечено, что результаты работы имеют научную новизну и практическую значимость, поскольку автором получены новые данные о серодиагностическом потенциале микобактериальных антигенов, выявлены перспективные кандидаты для серодиагностики туберкулеза, а также предложены подходы, позволяющие значительно повысить чувствительность и специфичность существующих тестов за счет изменения качества антигенов, входящих в их состав.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, и большим опытом работы в области микробиологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана научно обоснованная концепция получения рекомбинантных антигенов *Mycobacterium tuberculosis*, пригодных для использования в серодиагностике туберкулеза. Предложены новые подходы к усовершенствованию серодиагностических тестов на туберкулез путем изменения качества (за счет использования различных способов их получения) и количества микобактериальных антигенов в их составе. Доказана перспективность использования дрожжевой системы экспрессии *Pichia pastoris* и химического конъюгирования рекомбинантных микобактериальных белков с синтетическим гексаарабинофуранозидом липоарабиноманнана для получения антигенов с повышенной серореактивностью с сыворотками больных туберкулезом, по сравнению с аналогичными антигенами, полученными в системе экспрессии *Escherichia coli*. Введен термин «мультиантигенная композиция», обозначающий набор из нескольких микобактериальных антигенов, который может быть использован в иммунодиагностике туберкулеза.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказаны положения о том, что гликозилирование белковых антигенов *Mycobacterium tuberculosis* способствует повышению их иммунореактивности в серологических

тестах, что расширяет представления о роли углеводных молекул в иммунном ответе при туберкулезе. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых микробиологических, молекулярно-генетических, иммунологических и статистических методов исследования. Изложены критерии выбора диагностически значимых антигенов *Mycobacterium tuberculosis* для серодиагностики. Раскрыты причины различий эффективности серологических тестов на туберкулез у разных пациентов, связанные с индивидуальной гетерогенностью гуморального иммунного ответа при туберкулезе, что обуславливает необходимость подбора оптимальных сочетаний антигенов в тестах для компенсации этих различий. Изучена связь между способом получения микобактериальных антигенов и эффективностью их взаимодействия со специфическими антителами в иммунологических анализах на примере использования двух систем экспрессии (*Escherichia coli* и *Pichia pastoris*). Проведена модернизация алгоритма расчета показателей эффективности иммуноферментного анализа с различными микобактериальными антигенами для выявления туберкулеза с использованием трех методов статистической обработки данных, которая обеспечивает получение достоверных результатов и возможность компетентного сравнения результатов данной работы и других авторов.

Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждается тем, что разработаны и внедрены методики получения антигенов *Mycobacterium tuberculosis* с помощью двух систем экспрессии (*Escherichia coli* и *Pichia pastoris*), а также методов химического синтеза и конъюгации, которые могут быть использованы при создании иммунохроматографических тестов для серологической диагностики микобактериозов. Определены перспективы использования различных сочетаний микобактериальных антигенов для повышения эффективности серодиагностики туберкулеза. Создана модель эффективного применения знаний о результатах тестирования различных микобактериальных антигенов в иммуноферментном анализе с сыворотками больных туберкулезом и здоровых доноров при разработке иммунохроматографических тестов на туберкулез. Представлены предложения по дальнейшему усовершенствованию серодиагностики туберкулеза.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что исследование проведено на высоком научно-методическом уровне с использованием классических (микробиологических, иммунологических) и современных молекулярно-генетических методов на сертифицированном оборудовании. Теория была построена на известных проверяемых данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации. Идея изучения серодиагностического потенциала различных микобактериальных антигенов базируется на мировом научно-исследовательском опыте. Установлено, что

большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленных в независимых источниках по данной тематике. В работе использованы методы описательной статистики, компьютерные программы и международные информационные базы данных.

Личный вклад соискателя состоит в выполнении аналитического обзора литературы, получении диагностически значимых микобактериальных антигенов в двух экспрессионных системах, проведении иммуноферментного анализа, статистической обработки экспериментальных данных, интерпретации полученных результатов и подготовке публикаций по выполненной работе. Конъюгаты рекомбинантных белков *M. tuberculosis* с синтетическим гексаарабинофуранозидом липоарабиноманнана получены автором совместно с Л. О. Кононовым, Н. М. Подвальным, П. И. Аброниной и Т. М. Мельниковой в ФБГУН ИОХ РАН, г. Москва. Секвенирование генетических конструкций, несущих целевые гены, соискатель проводила с А. Г. Богуном в ФБУН ГНЦ ПМБ, п. Оболенск.

На заседании 14.05.2015 диссертационный совет принял решение присудить Дятловой В.И. ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 12 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 18, против - 0, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета

Заслуженный деятель науки РФ,

доктор медицинских наук, профессор

Афанасьев Станислав Степанович

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук

14.05.2015

Борисова Ольга Юрьевна

