

Отзыв научного руководителя

на диссертационную работу Шарова Т.Н.

«Разработка алгоритмов экспресс-идентификации и белкового профилирования микромицетов рода *Coccidioides* с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03. – микробиология

Диссертационная работа Шарова Тимура Николаевича выполнена в лаборатории особо опасных микозов Федерального казенного учреждения здравоохранения «ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в соответствии с новой тематикой НИР.

Актуальность исследования обусловлена тем, что случаи кокцидиодомикоза регистрируются ежегодно как в эндемичных регионах мира, так и за их пределами. Основные причины, вызывающие обеспокоенность эпидемиологов, это развитие туризма в эндемичные области, повышение экспорта различных пищевых растительных продуктов, а также вероятность использования возбудителей кокцидиодомикоза в качестве агентов биотерроризма. Все это указывает на существующую реальную опасность завоза в Россию этого возбудителя из эндемичных районов и диктует необходимость дальнейшего совершенствования лабораторной диагностики заболевания.

Эффективным и надежным средством экспресс-идентификации и белкового профилирования показал себя метод времепролетной масс-спектрометрии, с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией. Однако в коммерческих базах данных до сих пор отсутствуют идентификационные масс-спектры возбудителей особо опасных микозов, в частности их наиболее типичных и распространенных представителей – возбудителей кокцидиодомикоза.

Диссертационное исследование Шарова Т.Н. посвящено отработке методологии масс-спектрометрического анализа возбудителя кокцидиодомикоза и созданию референтных масс-спектров для идентификации штаммов *Coccidioides spp.* Для достижения главной цели оптимизированы условия культивирования и пробоподготовки мицелия микромицета, накоплены характеристические масс-спектры и проведен их анализ. В результате получены оригинальные экспериментальные данные, характеризующиеся научной новизной.

Разработан комплекс методических приемов пробоподготовки клеток возбудителя кокцидиодомикоза для MALDI-TOF масс-спектрометрии,

обеспечивающий как обеззараживание, так и эффективную экстракцию белковых компонентов микромицетов.

Исследовано влияние условий культивирования микромицетов на воспроизводимость масс-спектрометрических характеристик и определена оптимальная схема культивирования *Coccidioides* spp., обеспечивающая достаточно высокий уровень воспроизводимости и высокие качественные характеристики клеточных масс-спектров.

Определены диапазоны масс-спектров, превалирующие по частоте встречаемости спектральных пиков и характеризующиеся стабильным компонентным составом.

На основе анализа родо- видо- и штаммоспецифических компонентов масс-спектров консервативных клеточных протеинов коллекционных штаммов *C. immitis* и *C. posadasii* сформированы родовой и видовые референтные «суперспектры» микромицетов, содержащие набор наиболее характерных и стабильно воспроизводимых спектральных пиков в анализируемом диапазоне молекулярных масс.

Разработан собственный раздел электронной базы данных референтных MALDI-TOF спектров SARAMIS™, позволяющий проводить видовую идентификацию штаммов видов *Coccidioides* с приемлемой достоверностью в диапазоне 74 - 95 %.

Материалы проведенных исследований были использованы при разработке разделов методических документов федерального и учрежденческого уровня, а также базы данных белковых профилей масс-спектров микроорганизмов I-II групп патогенности, зарегистрированной в установленном порядке.

Все положения диссертации отражены в автореферате и публикациях. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 4 статьи в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Материалы диссертации прошли апробацию на научных конференциях различного уровня. По совокупности методических подходов и исследованных проблем диссертационная работа Шаров Т.Н. соответствует специальности 03.02.03 – микробиология.

Как специалиста Тимура Николаевича отличают профессиональная компетентность, инициативность, целеустремленность, ответственность и трудолюбие. Высокий уровень его методической подготовки выражается в успешном использовании различных микробиологических, биотехнологических, иммунологических, биохимических и молекулярно-генетических методов исследования. Умение ориентироваться в современном состоянии изучаемой проблемы и суммировать большой объем научной информации отражено в

жены в представленном им обзоре литературы. Высокий уровень профессиональной подготовки, настойчивость и целеустремленность позволили Т.Н. Шарову получить большое количество приоритетных данных, обеспечивших решение поставленных задач и достижение цели диссертационного исследования.

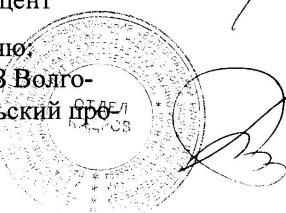
По актуальности исследований, научной новизне, теоретической и практической ценности полученных результатов диссертация Т.Н. Шарова «Разработка алгоритмов экспресс-идентификации и белкового профилирования микромицетов рода *Coccidioides* с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии» представляет собой законченное экспериментальное исследование, выполненное лично соискателем на современном методическом уровне. Диссертационная работа соответствует «Положению о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, и может быть представлена к защите по специальности 03.02.03. – микробиология.

Научный руководитель диссертационной работы
заместитель директора по научно-экспериментальной работе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, доктор биологических наук, доцент



Викторов
Дмитрий Викторович

Подпись Д.В. Викторова заверяю:
начальник отдела кадров ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противоочумный институт
Роспотребнадзора



Н.В. Бяхова

Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противоочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противоочумный институт Роспотребнадзора), 400131, г. Волгоград, ул. Голубинская, 7, тел. (8442) 37-33-65, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.