

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук, член-корреспондент РАН



С.В. Костров

«23» апреля 2018 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук.

Диссертация «Разработка диагностической панели для изучения видового разнообразия вагинальных лактобактерий и оценки состояния вагинальной микробиоты» выполнена в Лаборатории молекулярной диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук.

В период подготовки диссертации соискатель Кошечкин Станислав Игоревич учился в аспирантуре, а впоследствии работал в должности инженера 1 категории в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте молекулярной генетики Российской академии наук.

В 2011 г. Кошечкин С.И. окончил биолого-почвенный факультет Иркутского государственного университета, получив квалификацию «биолог», со специализацией в области молекулярной биологии и физиологии растений. и поступил в очную лицензированную аспирантуру Института молекулярной генетики РАН по специальности 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)», которую окончил в 2015 году.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2018 году Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом молекулярной генетики Российской академии наук.

Научный руководитель – кандидат медицинских наук Демкин Владимир Витальевич, работал заведующим лабораторией молекулярной генетики, а с декабря 2017 г работает руководителем Центра клеточных и генных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук.

По итогам обсуждения результатов исследований, включенных в диссертационную работу Кошечкина С.И. на тему: «Разработка диагностической панели для изучения видового

разнообразия вагинальных лактобактерий и оценки состояния вагинальной микробиоты», принято следующее заключение:

Конкретное участие автора в получении научных результатов.

Экспериментальные результаты работы получены автором лично или при его непосредственном участии.

Степень достоверности результатов исследований.

Работа Кошечкина С.И. выполнена на высоком методическом уровне, были использованы современные методы молекулярной биологии и генетики. Научные положения и выводы диссертации логично вытекают из полученных данных и являются полностью обоснованными. Полученные результаты согласуются с данными мировой научной литературы. Достоверность результатов работы подтверждена публикациями в ведущих российских и международных журналах.

Новизна результатов и их практическая значимость.

В ходе работы был проведен сравнительный анализ геномов лактобактерий, по результатам которого была найдена генетическая область, способная служить мишенью для амплификации ДНК вагинальных лактобактерий. Найденная область относилась к гену *rplK*, кодирующему рибосомальный белок L11. Указанный ген был впервые предложен в качестве генетической мишени для видовой идентификации лактобактерий.

На основе метода ПЦР в реальном времени, обеспечивающего амплификацию маркерного участка гена *rplK*, разработана тест-система для количественного определения общего содержания лактобактерий. Метод определения интегрального количества вагинальных лактобактерий на основе гена *rplK* более специфичен, чем методы на основе амплификации гена 16S рРНК и является первым методом, определяющим интегральное количество вагинальных лактобактерий на основе однокопийной мишени.

На основе метода ПЦР в реальном времени, обеспечивающего амплификацию маркерного участка гена *rplK*, разработана не имеющая аналогов в мире диагностическая панель, позволяющая в 2-х реакциях идентифицировать 11 видов вагинальных лактобактерий: 4 индивидуальных вида - *L. iners*, *L. crispatus*, *L. jenseni* и *L. acidophilus*, одной пары видов *L. gasseri* и *L. johnsonii* без дифференциации и группы лактобактерий из 5-ти видов также без дифференциации - *L. helveticus*, *L. amylovorus*, *L. gallinarum*, *L. acetotolerans* и *L. kefirifaciens*.

Показано, что независимо от региона проживания, в широком диапазоне возрастов, как при наличии, так и при отсутствии заболеваний органов малого таза, в качестве основных

видов лактобактерий в вагинальных микробиотах российских женщин встречаются только 4 вида: *L. iners*, *L. crispatus*, *L. jenseni* и *L. gasseri*. Другие виды лактобактерий встречаются крайне редко и являются минорными компонентами.

Разработанные тест-системы являются удобным инструментом для скрининговых исследований и предоставляют широкие возможности для изучения распространенности видов вагинальных лактобактерий. С помощью разработанной системы нормирования и методики математического обсчета получаемых результатов предлагается система комплексной оценки клинического состояния микробиоты. Результаты таких исследований могут быть крайне важны как для понимания фундаментальных основ функционирования микробиоценоза женского репродуктивного тракта, так и для разработки и назначения пробиотиков для коррекции дисбиотических состояний в рамках концепции персонафицированной медицины.

Специальность, которой соответствует диссертация.

Тема диссертационной работы Кошечкина С.И. «Изучение популяционной вариабельности микробиоты человека», утвержденная на заседании Ученого совета ИМГ РАН (протокол №2 от 27.02.2012) и скорректированная на заседании Ученого совета ИМГ РАН 23.04.2018 (протокол №4) – «Разработка диагностической панели для изучения видового разнообразия вагинальных лактобактерий и оценки состояния вагинальной микробиоты», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационной работе на соискание ученой степени кандидата наук (п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а содержание диссертационной работы соответствует пункту 1 (генетические, селекционные и иммунологические исследования в прикладной микробиологии, вирусологии и цитологии) паспорта специальности 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)», п.1.

Перечень работ, в которых отражены основные научные результаты:

Статьи в рецензируемых журналах

Demkin, V.V., Koshechkin, S.I. Characterization of vaginal *Lactobacillus* species by rplK - based multiplex qPCR in Russian women. *Anaerobe* 2017, V. 47, October 2017, pp. 1–7.

Demkin, V.V., Koshechkin, S.I., Slesarev, A. A novel real-time PCR assay for highly specific detection and quantification of vaginal lactobacilli. *Molecular and Cellular Probes* 2017, Volume 32, April 2017, pp. 33–39.

Тезисы конференций

Кошечкин С.И., Иванова Н.В., Духанина Н.С., Заруцкая Г.Н., Багдалова Ф.А., Медетханова Ф.Г., Навбатникова Е.В., Демкин В.В. Видовое разнообразие лактобактерий в вагинальных мазках беременных женщин г. Москвы. В книге: Молекулярная диагностика -

2017 Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под ред. В.И. Покровского. 2017, т.1, стр. 390-391.

Кошечкин С.И., Морева Ж.Г., Демкин В.В. Видовое разнообразие лактобактерий в вагинальных мазках женщин г. Иваново. Актуальные вопросы и перспективы развития медицины. Выпуск III. Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции (11 мая 2016 г). Омск, 2016, стр. 65-67.

Кошечкин С.И., Демкин В.В. Видовое разнообразие лактобактерий в вагинальных микробиотах женщин России. Материалы конгресса «X Юбилейный международный конгресс по репродуктивной медицине» М., 2016, стр. 413.

Кошечкин С.И., Карлина В.П., Кузьмичева Р.А., Демкин В.В. Анализ видового состава лактобактерий в микробиотах влагалища у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени. Молекулярная диагностика. Сб. трудов / колл.авт., под ред. В.И. Покровского. - Т.1 - М.: ООО "Издательство МБА", 2014.- 560 с. Стр.181-182.

Демкин В.В., Кошечкин С.И. Структура патогенной и условно-патогенной микрофлоры половой сферы по результатам обследования женщин Московского региона. Инфекционные болезни, 2013, т.11, приложение №1, стр. 120-121. (Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням, 25-27 марта 2013 года, г. Москва).

На основании вышеизложенного Ученый совет ИМГ РАН постановил:

Диссертация Кошечкина Станислава Игоревича на тему: «Разработка диагностической панели для изучения видового разнообразия вагинальных лактобактерий и оценки состояния вагинальной микробиоты» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Заключение принято на заседании Ученого совета ИМГ РАН 23.04.2018 (протокол №4).

Присутствовало на заседании человек из 13 входящих в Ученый совет.

Результаты голосования: «за» – 13 человек, «против» – 0, «воздержавшихся» – 0, протокол № 4 заседания Ученого совета ИМГ РАН от 23.04.2018 г.

Ученый секретарь ИМГ РАН,
кандидат биологических наук



Андр
Демкин

Л.Е. Андреева