

Сравнительный анализ масс-спектров *Blastomyces dermatitidis* в мицелиальной и дрожжевой фазах роста / Comparative analysis of the mass spectra of *Blastomyces dermatitidis* in the mycelial and yeast phases of growth

Суркова Р.С. / Surkova R.S.

Шаров Т.Н., Половец Н.В., Липницкий А.В., Шпак И.М., Муругова А.А. / Sharov T.N., Polovets N.V., Lipnitsky A.V., Shpak I.M., Murugova A.A.

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград, Россия /
Volograd Research Institute for Plague Control of Federal Service on Consumer Rights Protection and Human welfare
Supervision, Volgograd, Russia

Введение

Бластомикоз – эндемическое для США и Канады инфекционное заболевание, вызываемое микромицетом *Blastomyces dermatitidis*. Возбудитель бластомикоза обладает диморфизмом. При комнатной температуре растет в виде мицелия, при повышении температуры до 37 °С - конверсирует в дрожжевую фазу. В последнее десятилетие перспективным направлением в идентификации представителей рода *Blastomyces* является MALDI-TOF масс-спектрометрия.

Цель

Провести сравнительный анализ характеристик масс-спектров возбудителей бластомикоза, полученных в мицелиальной (сапрофитической) и дрожжевой (паразитической) фазах роста.

Материалы и методы

В ходе настоящего исследования были протестированы 7 штаммов возбудителя бластомикоза. Для получения масс-спектров протеомного состава клеток *B. dermatitidis* в мицелиальной и дрожжевой фазах роста, штаммы культивировали на агаре Сабуро с глюкозой (HiMedia, Индия) и Френсиса в модификации, соответственно. Подготовку проб проводили по методу Gimenes V. и соавт. [Tarumoto N. et al., 2016; Gimenes V., de Freitas R., 2019]. Масс-спектры регистрировали на приборе Axima Confidence (Shimadzu, Япония). Сравнительный анализ спектров проводили с помощью пакета программ Matchms в свободном доступе.

Результаты

Сопоставление полученных масс-спектров двух фаз развития гриба *B. dermatitidis* показало, что высокое количество пиков, их воспроизводимость и оптимальное соотношение сигнал/шум наблюдалось при исследовании сапрофитической фазы (Рис. 1). Полученные в масс-спектрах расхождения можно объяснить различием в строении клеточной стенки гриба. Дрожжевые клетки, в отличие от мицелиальных, обладают повышенной прочностью и устойчивостью к лизису и практически не разрушаются под действием трифторуксусной кислоты, применяемой на этапе пробоподготовки.

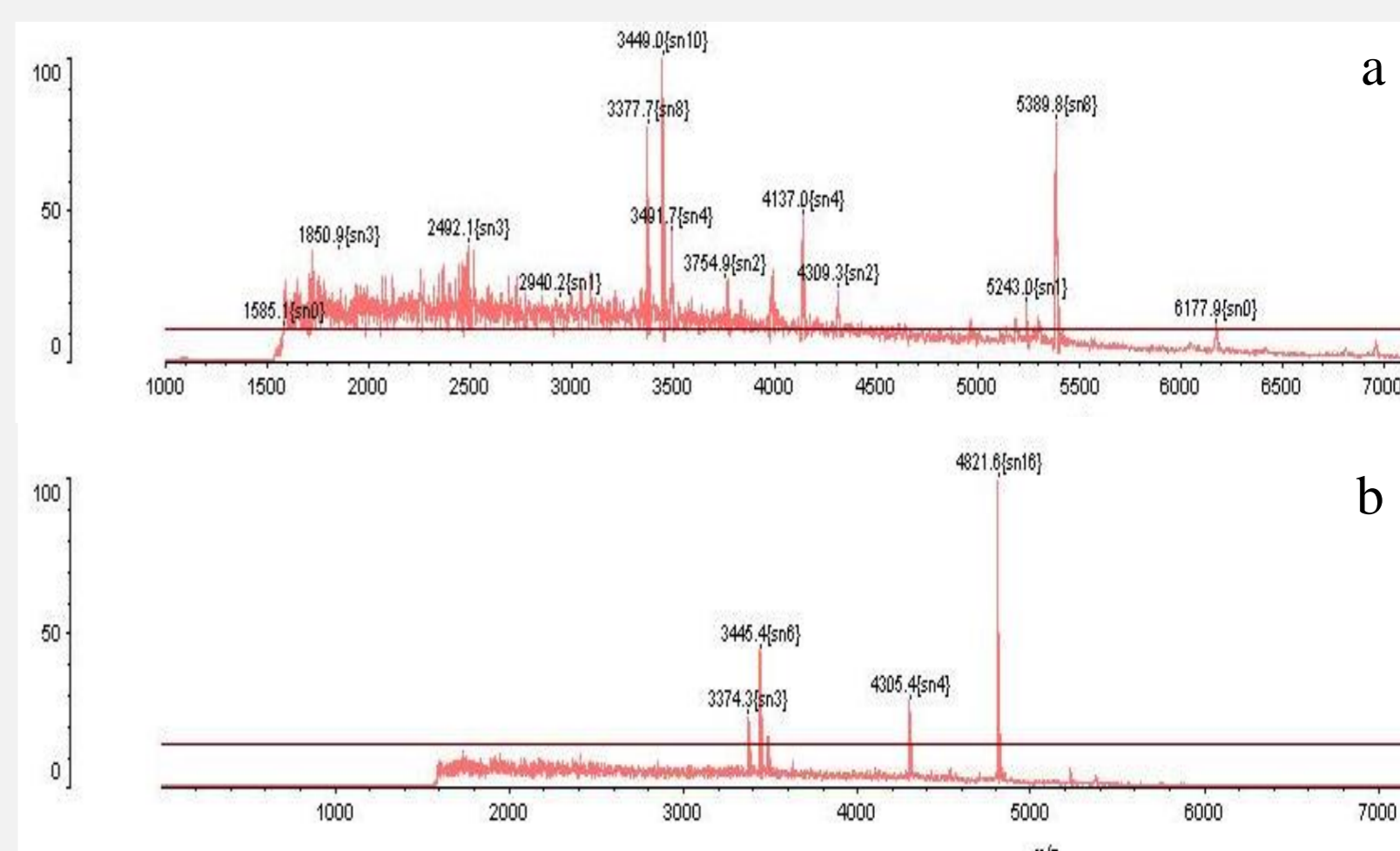


Рисунок 1. Масс-спектры *B. dermatitidis*, где по оси X – отношение массы к заряду, m/z (Да), по оси Y – интенсивность ионизации (%), а – мицелиальная фаза, б – дрожжевая фаза.

Выводы

1. Для получения информативных масс-спектров дрожжевой фазы следует модернизировать протокол этапа пробоподготовки.
2. Наличие в базах данных информации о масс-спектрах как мицелиальной, так и дрожжевой фаз развития гриба является необходимым условием проведения точной и быстрой идентификации возбудителя бластомикоза.
3. Дальнейшее использование биоинформационно-статистического подхода позволит провести кластерный анализ масс-спектров, полученных в ходе конверсии микромицета.

Библиография

1. Tarumoto N., Sakai J., Kodana M., Kawamura T., Ohno H., Maesaki S. Identification of Disseminated Cryptococcosis Using MALDI-TOF MS and Clinical Evaluation // Med. Mycol. J. – 2016. - №57(3). – P. E41-6. doi: 10.3314/mmj.16-00002.
2. Siqueira L.P.M., Gimenes V.M.F., de Freitas R.S., Melhem M.S.C., Bonfietti L.X., da Silva A.R. Jr., Souza Santos L.B., Motta A.L., Rossi F., Benard G., de Almeida J.N. Jr. Evaluation of Vitek MS for Differentiation of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* Genotypes // J. Clin. Microbiol. - 2019. - №2;57(1). - pii: e01282-18.

