

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Литова Александра Геннадьевича
на тему: «Изменение структуры популяции переносимых клещами
флавивирусов при адаптации к репродукции в различных системах»
по специальности 03.02.02 – «вирусология»

Флавивирусы – группа арбовирусов, которые имеют большое медицинское и социально-экономическое значение. Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) особенно важен для Российской Федерации, поскольку большая часть ареала вируса находится именно на территории России. В последние годы было показано, что частота субклинической инфекции ВКЭ может оказаться на несколько порядков выше, чем частота клинически регистрируемого заболевания, и механизмы вирулентности ВКЭ остаются недостаточно изученными. Очевидно, что изменчивость вируса в системе клещ-млекопитающее может играть ключевую роль в определении вирулентности вируса для человека. В то время как множество научных групп во всем мире занимаются изучением детерминант вирулентности флавивирусов, переносимых комарами, клещевые флавивирусы получают значительно меньше внимания. В этой связи работа А.Г. Литова имеет большое научное и прикладное значение.

Диссертация оформлена на 163 страницах, содержит 21 таблицу и 31 рисунок, список литературы содержит 200 источников. Обзор литературы написан на современном научном уровне. Подробно рассмотрены как молекулярная биология вирусов клещевого энцефалита и Повассан, так и теория квазивида у вирусов. Очень хорошо разбираются различные методические подходы к изучению гетерогенности вирусной популяции и предыдущие эксперименты по изучению адаптации ВКЭ к различным системам. Раздел «материалы и методы» детальный и подробный. Работа

выполнена на современном научно-методическом уровне. Используются как современные методы генетического анализа, так и классические экспериментальные методы *in vitro* и *in vivo*. К сожалению, во многих случаях не представлены доверительные интервалы данных (титра вируса, LD₅₀ и т.д.). Хотя большая часть рассуждений и выводов основана на значительных различиях титров вируса (более чем 10-кратных), экспертиза результатов может быть осложнена для эксперта, не знакомого детально с использованными экспериментальными системами и их обычными доверительными интервалами. В целом, выводы работы вполне обоснованы экспериментальными данными. Пассирование вируса и изучение его свойств выполнено в достаточном числе повторностей и вариаций экспериментальных условий, что вполне компенсирует отсутствие доверительных интервалов для отдельных опытов. К сожалению, оформление и обсуждение результатов подразумевают, что читатель очень детально знаком с биологией ВКЭ и используемыми моделями, и не всегда ориентированы на менее информированного читателя. Например, обсуждение накопления замен, повышающих положительный заряд белка Е, проведено на «умозрительном» уровне, без приведения расчетов по заряду белка Е, без визуализации замен на поверхности белка Е аналогично приведенной по данным литературы иллюстрацией (Рис. 16). Теоретические основы изучения замен, увеличивающих локальный положительный заряд, подробно изложены в тексте диссертации, однако в автореферате принимаются как аксиома, что затрудняет чтение автореферата без основного текста работы. Обсуждение мелко- и крупнобляшечного фенотипа основано на обширном опыте рабочей группы, где выполнялась работа, но без детального знания предшествующих результатов воспринимается с трудом. В автореферате сделаны некоторые обобщения и допущения, использованы нестандартные термины, например, «мажорная гетерогенность» вместо мажорная замена/мутация/вариант. Используются недостаточно точные формулировки, например «нетрудно заметить, что

большинство клонов ...» (стр. 11) или «последовательные пассажи вирусов в системе с низкой множественностью заражения» - это 0,1 или 0,001? Следует отметить, что эта информация содержится в тексте диссертации, но ее отсутствие в автореферате затрудняет понимание экспериментальной системы.

Выносимые на защиту положения отличаются научной новизной. Собственно накопление положительного заряда аминокислот при адаптации ВКЭ к культуре клеток достаточно хорошо изучено, однако в работе А.Г. Литова показано сохранение минорных фракций в популяции вируса при пассировании в различных условиях. С использованием высокопроизводительного секвенирования показана динамика накопления мутаций в популяции вируса при адаптации к репликации в новой системе. Важно отметить, что впервые выполнено сравнение закономерностей адаптации двух клещевых флавивирусов, ВКЭ и Повассан, к разным репликативным системам, и показано, что хорошо изученные для ВКЭ закономерности могут быть экстраполированы и на другие клещевые вирусы. Обнаруженные при адаптации вируса к репликации при низкой температуре мутации могут стать основой для разработки вакцин нового поколения.

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.02.02 – «вирусология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Литов Александр Геннадьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «вирусология».

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор РАН
директор Института Медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет).

Лукашев Александр Николаевич

21.03.2019

Контактные данные:

тел.: 7(915)160-74-89,

e-mail: alexander_lukashev@hotmail.com

Специальность, по которой официальным опп

защищена диссертация:

03.00.06 – Вирусология

Адрес места работы:

119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2,

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)

Тел.: +7 (499) 245-35-07; e-mail: martsinovsky-institute@mail.ru

