

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу

Бабкина Игоря Викторовича

«МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ВИРУСОВ С РНК- И ДНК-ГЕНОМАМИ: АСТРОВИРУС ЧЕЛОВЕКА, БОКАПАРВОВИРУСЫ И ОРТОПОКСВИРУСЫ»

Представленную, на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология

Актуальность диссертационной работы

Вопросы эволюции вирусов чрезвычайно сложны, и только в последнее время появились теории, пытающиеся описать пути возникновения и развития этих внутриклеточных паразитов. Так, все еще остается на повестке дня вопрос: произошли ли различные вирусы независимо (полифилетическое происхождение) или нет (монофилетическое происхождение). Появившаяся в последнее время возможность секвенирования ДНК, полученной из древних ископаемых, позволила исследовать геномы вирусов животных и человека, циркулировавших много сотен лет назад. Изучение варибельности вирусных геномов важно для оценки эпидемического потенциала возникающих вариантов вируса и для решения научной проблемы – прогнозирования появления новых инфекционных агентов, которые неизбежно будут возникать в ближайшем будущем.

Вирусы могут эволюционировать как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения их геномов. В ряде случаев эволюция вируса идет в направлении увеличения патогенности, например, при широком использовании противовирусных препаратов и вакцин. Стратегия эволюции вируса зависит от множества факторов – ошибочности его репликации, организации генома, размера вирусной популяции, численности популяции хозяев, копийности вируса, его специфичности, степени летальности вызываемого заболевания, контагиозности вируса, его устойчивости в окружающей среде и т.д.

Таким образом, научные исследования по изучению эволюции вирусных геномов, особенно потенциально-опасных для человека, вирусных патогенов являются крайне важными и актуальными. Диссертация Бабкина И.В. является серьезным шагом для понимания процесса эволюции таких важных вирусов как: астровирус человека, бокапарвовирусы и ортопоксвирусы. Важность и актуальность данной работы не вызывает никаких сомнений и является во многом пионерской в данной области исследований по молекулярной биологии и генетики вирусов.

Структура работы

Диссертационная работа Бабкина И.В. представлена в виде научного доклада и сопровождающего его автореферата. В связи с этим обзор литературы и подробное описание экспериментальных методов как таковые в диссертации отсутствуют; экспериментальные методы на должном уровне описаны в публикациях соискателя по теме диссертации. Автореферат хорошо структурирован и состоит из общей характеристики работы, описания содержания работы, заключения, выводов и списка публикаций. Автореферат изложен на 41 странице, проиллюстрирован 14 рисунками.

В первой части диссертант обосновывает актуальность проблемы, формулирует цель и задачи исследования, суммирует научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, определяет положения, выносимые на защиту, описывает свой личный вклад в выполнение работы и указывает мероприятия, на которых были апробированы ее основные результаты.

Собственно описание работы разделено на три части. Первая часть посвящена молекулярной эволюции астровирусов с +РНК-геномом. Было показано, что геномы, изучаемых изолятов астровируса человека генотипов 2а, 2с, 3, и 4 возникли в результате рекомбинации. Поиск возможных сайтов рекомбинации, выявил четыре потенциальных сайта рекомбинации в полных геномах астровирусов человека. Автором впервые на основе последовательности ORF1а была определена средняя скорость накопления мутаций в геноме астровирусов человека, впервые изучена молекулярная эволюция астровируса человека и показано, что астровирус человека является высокоизменчивым вирусом с высокой скоростью накопления замен и частыми рекомбинационными событиями. Вторая

часть исследований Бабкина Игоря Викторовича посвящена молекулярной эволюции бокапарвовирусов, характеризующихся короткими одноцепочечными ДНК-геномами. Диссертантом был разработан набор праймеров для обнаружения всех возможных промежуточных продуктов репликации бокапарвовирусов., проанализирован вклад рекомбинации в эволюцию бокапарвовирусов человека, проанализированы последовательности геномов бокапарвовирусов человека всех известных генотипов. С привлечением последовательностей из баз данных и секвенированных самим автором была выведена эволюционная хронология этих вирусов. Третья часть диссертации – наиболее обширная- посвящена молекулярной эволюция ортопоксвирусов с протяженными двухцепочечными ДНК-геномами. Я не буду подробно останавливаться на всех результатах полученных при выполнении данного раздела работы, они все, несомненно важные и интересные, остановлюсь только на наиболее значимых с моей точки зрения. Так диссертантом был проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей опасных для человека ортопоксвирусов – вирус натуральной оспы (ВНО), вирус оспы обезьян (ВОО), вирус оспы коров (ВОК) и вирус оспы верблюдов (ВОВ) и на его основе разработан метод быстрой видоспецифичной детекции, с помощью мультиплексной ПЦР. Были сконструированы пять пар праймеров: первая пара – родоспецифичная на все ортопоксвирусы (к последовательности высококонсервативного гена F4L), остальные четыре пары – видоспецифичные на ВНО, ВОО, ВОК и ВОВ. В эксперименте на панели 57 образцов ДНК различных изолятов ортопоксвирусов, в том числе препаратов из клинических образцов, была показана высокая чувствительность и специфичность созданного метода идентификации патогенных ортопоксвирусов.

В целях исследования и сохранения российской коллекции вируса натуральной оспы диссертантом была проведена амплификация геномов 21 штамма коллекции. Для этого были сконструированы праймеры, позволяющие получить набор из 20 перекрывающихся ампликонов покрывающий полный геном вируса натуральной оспы. Созданные коллекции ампликонов были паспортизованы и заложены на долговременное хранение.

В целом поставленные в работе задачи диссертантом решены, выносимые на защиту положения аргументированы. Бабкиным И.В. была проведена огромная по объему и важная по полученным результатам работа. Все полученные результаты должным образом опубликованы в научной печати и отражены в научном докладе и автореферате.

Существенных **замечаний** по диссертационной работе у меня нет. Есть небольшое замечание по оформлению: нет расшифровки сокращений. Особенно по ортопоксвирусам. Не все знают расшифровку ВНО, ВОО, ВОК, ВОВ. Возможно, стоило привести эту расшифровку хотя бы по тексту.

Степень обоснованности и достоверность научных положений и выводов

Представленные в работе результаты свидетельствуют о том, что научные положения и выводы полностью обоснованы и достоверны. Выводы работы лежат в рамках современного понимания процессов, происходящих при эволюции вирусных геномов. Материалы диссертационной работы отражены в 26 публикациях: в 25 статье в рецензируемых изданиях (15 в российских и 10 в международных научных журналах) и одном патенте РФ.

Научная новизна и научно-практическая значимость полученных результатов

Работа выполнена в очень актуальной области, на стыке научных дисциплин: молекулярной биологии, вирусологии и генетики. Представленное автором исследование вносит существенный вклад в дальнейшее развитие методов и алгоритма оценки эволюции вирусных патогенов. На мой взгляд, данная работа является в какой-то мере «методическим пособием» для изучения эволюции других вирусов.

Заключение

Все вышеизложенное позволяет утверждать, что диссертационная работа Бабкина Игоря Викторовича «Молекулярная эволюция вирусов с РНК- и ДНК-геномами: астровирус человека, бокапарвовирусы и ортопоксвирусы» является цельным завершенным научным исследованием, полностью соответствует требованиям, установленным пп.2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте

химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание учёной степени доктора наук. Диссертационная работа в виде научного доклада оформлена в соответствии с Приложениями 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Бабкин Игорь Викторович заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.03 - молекулярная биология.

Официальный оппонент:

Директор НИИ вирусологии ФИЦ ФТМ
доктор биологических наук, профессор



Шестопалов А.М.

27.10.2022

630117, г. Новосибирск, ул. академика Тимакова, д. 2, ФГБНУ
«Федеральный Исследовательский Центр Фундаментальной и Трансляционной
Медицины» (ФИЦ ФТМ),

тел. (383) 333 65 37, email: shestopalov2@mail.ru

Подпись Шестопалова А.М. удостоверяю

Начальник ОК ФГБНУ ФИЦ ФТМ



Минеева О.М.