

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Нефедьевой М.В. «Характеристика рекомбинантного вируса африканской чумы свиней с делецией регулятора транскрипции A238L», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 (вирусология).

Диссертационная работа Нефедьевой М.В. посвящена исследованию белков вируса АЧС, играющих важную роль в уклонении вируса от защитных систем организма. Африканская чума свиней наносит большой ущерб экономикам Российской Федерации и её важнейших торгово-экономических партнеров. Так, общие потери от АЧС в РФ только за период с 2008 по 2017 год составили более 40 млрд. руб. В последнее время ситуация с распространением АЧС в мире угрожает перерасти в пандэмию: в 2016 - 2019 гг. вспышки АЧС зафиксированы в различных странах Европы и Азии. Особенную тревогу вызывает распространение болезни в граничащих с Россией Монголии и Китае, что угрожает ее переносом в ранее благополучные по АЧС регионы РФ. Развитие эпизоотии АЧС в Китае несет серьезные угрозы для всего мира на рынке продовольствия, поскольку в этой стране сосредоточено около 50 % мирового производства свинины. Учитывая вышесказанное, тема данной диссертационной работы М.В. Нефедьевой, несомненно, является актуальной и современной. Исследования, проведенные М.В. Нефедьевой в рамках своей диссертационной работы, направлены на решение как фундаментальных, так и прикладных научных проблем. К наиболее существенным фундаментальным проблемам, исследуемым в данной работе, можно отнести понимание молекулярных механизмов взаимодействия вируса АЧС со своим хозяином, а также анализ полиморфизма последовательностей генов, вовлеченных в уклонение от иммунного ответа, у различных изолятов вируса АЧС. В тоже время, результаты анализа нуклеотидных последовательностей генов A238L, I329L и DP71L могут быть применены для разработки диагностических тест-систем, тогда как делеционный вариант вируса АЧС по гену A238L может быть использован для конструирования аттенуированного штамма и, в перспективе, для получения эффективной вакцины против АЧС.

Диссертационная работа Марии Владимировны Нефедьевой является цельным законченным исследованием. Первая часть работы посвящена секвенированию и биоинформатическому анализу генов вируса АЧС, участвующих в иммунном уклонении. В частности, были определены и депонированы в GenBank нуклеотидные последовательности трех генов A238L, I329L и DP71L для 16 штаммов АЧС из Государственной коллекции микроорганизмов, вызывающих опасные, особо опасные, в том числе зооантропонозные и не встречающиеся на территории страны болезни животных ФГБНУ ФИЦВиМ. Кроме того, был проведен филогенетический анализ аминокислотных последовательностей семи генов, участвующих в иммунном уклонении: A179L, A224L, A238L, EP153R, EP402R, I329L, DP71L. Автором установлено, что филогенетические деревья, построенные на основе анализа последовательностей этих белков и полноразмерных геномов, полностью совпадают. Это позволило автору сделать вывод, что гены, вовлеченные в модуляцию иммунного ответа, являются генетическими маркерами эволюционной изменчивости. Вторая часть диссертационной работы посвящена получению вирус АЧС Волгоград/14с AA238L с делецией гена A238L и его

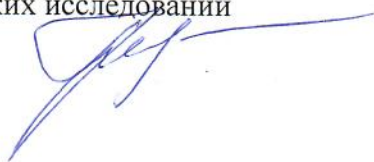


характеристике *in vitro*. Рекомбинантный вирус был получен Марией Владимировной за счет гомологичной рекомбинации между ДНК вируса и плазмиды, содержащей участок вирусной ДНК области гена A238L, в котором интересующая ОРС была замещена на ОРС для зеленого флуоресцентного белка EGFP. Это позволило провести отбор рекомбинантного вируса по наличию флуоресценции в инфицированных клетках результате экспрессии репортерного гена. Дальнейший анализ репродукции рекомбинантного вируса Волгоград/14с ΔA238L в перевиваемой культуре клеток COS-1 позволил установить, что делеция гена A238L не оказывает влияния на его репродукцию: кинетика накопления ампликонов рекомбинантного вируса была неотличима от родительского штамма. В заключительной части исследования Нефедьевой М.В. было проанализировано влияние продукта гена A238L на подавление активности эффекторной каспазы-3 в инфицированных клетках. Показано, что делеция гена A238L приводит к полуторакратному увеличению активности каспазы-3 на ранних стадиях инфекции. Эти данные подчеркивают значимость результатов, полученных автором в диссертационной работе, а также указывают на перспективные направления дальнейших исследований.

Выводы, сделанные автором, полностью соответствуют результатам. Работа выполнена на хорошем научно-методическом уровне, а её актуальность и новизна подтверждается публикациями научных журналов.

Представленный в автореферате материал позволяет сделать заключение, что диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК, а её автор, Мария Владимировна Нефедьева, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Кандидат биологических наук,  
ведущий научный сотрудник,  
и.о. зав. лабораторией энзимологии генетических процессов  
Института биохимии и физиологии  
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН  
(ИБФМ РАН, обособленное подразделение  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр  
«Пушкинский научный центр биологических исследований  
Российской академии наук»)



И. Э. Грановский

13.01.2020 г.

142290, Московская обл., г Пушкино,  
пр. Науки, д. 5  
тел. 8 (4967) 73-86-20 (доб. 526)  
эл. почта: [granovskiy@ibpm.pushchino.ru](mailto:granovskiy@ibpm.pushchino.ru)

