

**Отзыв официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук Вакуленко Юлии Александровны  
на тему: «Закономерности рекомбинации и эволюции у ряда социально  
значимых (+)РНК-вирусов млекопитающих»,  
по специальности 1.5.10 – «вирусология»**

РНК-вирусы являются источником возникающих инфекций, которые стали вызовом для здравоохранения в 21 веке. Изучение закономерностей эволюции РНК-вирусов необходимо для понимания принципов их существования и причин возникновения новых инфекций. Благодаря развитию методов вычислительной биологии стало возможно получить ответы на широкий круг вопросов, связанных с эволюцией вирусных популяций, используя нуклеотидные и аминокислотные последовательности вирусов. В последние десятилетия количество вирусных последовательностей в банках данных выросло в сотни раз, благодаря чему стал возможен комплексный анализ различных аспектов эволюции интересующих групп вирусов. В то же время доступность большого количества данных требует разработки биоинформатического инструментария для их обработки.

Целью диссертационной работы Ю.А. Вакуленко было изучение генетического разнообразия, изменчивости и рекомбинации у ряда семейств (+)РНК вирусов – *Picornaviridae*, *Caliciviridae*, *Astroviridae* и *Coronaviridae*. В частности, впервые систематически изучены закономерности рекомбинации вирусов семейств *Caliciviridae*, *Astroviridae* и *Coronaviridae* на разных таксономических уровнях и с учетом динамики во времени. Впервые выполнено систематическое изучение филодинамики наиболее распространенных типов неполиомиелитных энтеровирусов человека видов А-D в глобальном масштабе и показано, что глобальная популяция энтеровирусов разных типов регулярно подвергалась «бутылочным горлышкам», что приводило к вымиранию линий. Также автором определены последовательности типизирующих фрагментов VP1 коксакивирусов А2, ассоциированных со случаями острого вялого паралича, выделенных в рамках надзора за неполиомиелитными энтеровирусами с 2001 по 2020 год и опровергнута гипотеза о возникновении варианта коксакивируса А2 с измененными патогенетическими характеристиками.

Для решения поставленных задач автором был разработан набор инструментов для автоматизации работы с нуклеотидными и аминокислотными последовательностями изученных вирусов и может быть полезен для будущих исследований. В ходе работы автором был разработан новый метод для детекции и визуализации рекомбинации в последовательностях вирусных геномов, основанный на сравнении попарных генетических расстояний в разных участках генома. Этот метод может использоваться как для изучения рекомбинации в комплексе с классическими методами, так и для предварительного анализа данных на предмет



рекомбинации перед проведением филогенетического анализа. Раздел диссертационной работы посвящен влиянию неравномерности выборок нуклеотидных последовательностей и технических ошибок в данных на результаты Байесовского филогенетического анализа. Автором были разработаны новые подходы к сокращению больших выборок нуклеотидных последовательностей и оценен их потенциал относительно внесения артефактов в результаты Байесовского филогенетического анализа. В частности, показано, что неравномерность выборки вирусных последовательностей, присущая большинству филогенетических исследований, может оказывать критическое влияние на оценки ключевых эволюционных параметров. Проанализировано влияние наличия последовательностей геномов с техническими ошибками в нуклеотидной последовательности и аннотации дат на Байесовский филогенетический анализ. Показано, что даже один генотип с ошибкой в последовательности или дате выделения может при определенных условиях значительно дестабилизировать филогенетический анализ и увеличить дисперсию выводимых эволюционных параметров. Эти результаты имеют прикладное значение и могут лечь в основу рекомендаций для подготовки данных для филогенетического анализа.

Диссертационная работа Вакуленко Юлии Александровны составлена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», выводов и списка цитируемой литературы, содержащего 348 ссылок. Работа изложена на 200 страницах, содержит 9 таблиц и 48 рисунков, иллюстрирующих полученные автором результаты.

Во введении автор диссертации обосновывает актуальность и степень разработанности темы, формулирует цель и задачи исследования, описывает научную новизну, практическую и теоретическую значимость работы.

Литературный обзор в полной мере отражает имеющийся задел по теме диссертации. Глава 1.1. литературного обзора посвящена особенностям эволюции (+)РНК-вирусов, далее (главы 1.2-1.5) автор приводит характеристику семейств вирусов, рассмотренных в работе. Особенно подробно в литературном обзоре описаны данные об их естественной рекомбинации. Приведенные автором данные показывают, что несмотря на то, что в литературе имеется множество сообщений о естественной рекомбинации РНК-вирусов, большинство исследований сосредоточено либо на очень узких группах вирусов, как правило, уровня рода или вида, либо имеют описательный характер, что обосновывает необходимость комплексного анализа рекомбинации в рассматриваемых семействах. В подглаве 1.3.6. уделено внимание медицинскому значению неполиомиелитных энтеровирусов, описаны известные случаи острого вялого паралича, связанные с коксакивирусом А2, и выдвинута гипотеза о возможном возникновении нового варианта коксакивируса А2. В подглавах 1.3.7–1.3.9 рассмотрены гипотезы происхождения типов энтеровирусов, описаны известные данные о времени происхождения типов энтеровирусов и



обоснована необходимость систематического анализа молекулярной эволюции энтеровирусов.

Глава 2 описывает материалы и методы, использованные автором для исследования. Автор использует широкий спектр биоинформатических методов, которые соответствуют поставленным автором задачам. Отдельная глава раздела посвящена методу детекции и визуализации рекомбинации, показана его работа на смоделированных данных. Раздел написан подробно, программы, написанные автором для обработки данных, выложены в открытый доступ. Помимо биоинформатических методов, в работе также применяются молекулярно-биологические методы.

Глава 3 содержит описание результатов исследования, а в 4 главе представлено обсуждение полученных результатов. Эти главы можно разделить условно на три блока – исследование рекомбинации в семействах *Caliciviridae*, *Astroviridae* и *Coronaviridae*, изучение влияния способов формирования выборок и артефактов выборки нуклеотидных последовательностей на результаты Байесовских филогенетических методов на примере энтеровируса A71 (сем. *Picornaviridae*), изучение молекулярной эволюции типов энтеровирусов человека.

Результаты исследования были представлены на 2 российских и 2 международных конференциях, по материалам исследования опубликовано 7 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в научном совете МГУ по специальности 1.5.10 – вирусология.

Работа представляет собой законченное научное исследование, посвященное систематическому анализу основных закономерностей рекомбинаций, характерных для выбранных семейств (+)РНК вирусов. Показано, что хотя паттерны рекомбинаций РНК вирусов в целом имеют общие черты (наиболее частый обмен блоками структурных и неструктурных генов), внутри каждого из семейств этот процесс имеет ряд специфических особенностей, определяемых в том числе экологическими и структурными характеристиками. Поставленные в работе задачи решены автором полностью, полученные научные выводы и положения, выносимые на защиту, соответствуют полученным результатам. По существу работы, по использованным методам и подходам, форме представленных результатов оппонент не имеет существенных замечаний.

Вместе с тем, в качестве научной дискуссии, хотелось бы более подробно обсудить какой вклад в данной закономерности вносят структурные элементы в геноме вирусов, насколько большее значение имеет совместимость генов, и какую роль автор здесь отводит влиянию дальнейшего отбора полученных вариантов. Существует ли возможность оценить влияние этих факторов для каждого из семейств на основе проведенных исследований? Другими словами, может ли автор на основе проведенного исследования предложить научную гипотезу о природе наблюдаемых различий между семействами?

Суммируя, представленная диссертация является выполненной квалификационной работой и полностью соответствует требованиям,

установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.10 – «вирусология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным в пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Нет никаких сомнений, что соискатель Вакуленко Юлия Александровна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «вирусология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, член-корреспондент РАН,  
заведующий лабораторией биотехнологии  
ФГБУ "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и  
микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства  
здравоохранения РФ  
Альховский Сергей Владимирович

Контактные данные:

тел.: +7(499)190-30-43, e-mail: [s\\_alkhovsky@gamaleya.org](mailto:s_alkhovsky@gamaleya.org)

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена  
диссертация:

03.02.02 – Вирусология

Адрес места работы:

123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18.

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный  
исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного  
академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения РФ

Тел.: +7 (499) 193-30-01; email: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org).

