

## Отзыв оппонента

на диссертацию С.Ю. Ковалева “Происхождение, распространение и эволюция вируса клещевого энцефалита”, представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Вопрос о времени и механизмах происхождения и распространения вирусов, циркулирующих в настоящее время, является одним из наиболее актуальных как в медицинской вирусологии, так и в фундаментальной биологии. На сегодняшний день был разработан ряд биоинформатических подходов для проведения подобных исследований, которые были выполнены практически для всех известных вирусов, имеющих социальное и экономическое значение. Таким образом, тема данной диссертации является весьма актуальной. Для решения данной задачи автором был использован оригинальный подход, основанный на объединении вирусов, идентичных по аминокислотной последовательности в части области генома, кодирующей белок E. Допустимость такого подхода вызывает большие сомнения. Одним из основных инструментов доказательной науки является использование общепризнанных методов оценки статистической значимости результатов. Такие методы являются неотъемлемым элементом современных филогенетических методик. Для получения статистически значимых результатов необходим определенный объем исходных данных. Чем более сходна последовательность геномов, тем больше требуемая длина нуклеотидной последовательности для получения статистически значимого результата. При определенных комбинациях генетической variability организма и длины определенной нуклеотидной последовательности в принципе невозможно получить статистически значимый результат с использованием общепризнанных методов. По всей видимости, такая комбинация условий

имела место в данном исследовании (стр. 86, последний абзац). Для преодоления этой проблемы автор полностью отказался от общепринятых статистических методик и использовал подход, не основанный на статистическом аппарате и подверженный случайным факторам.

Выделение кластеров на основе аминокислотной последовательности не только не соответствует критериям статистической достоверности, но и противоречит базовым принципам филогенетических исследований. Аминокислотные замены могут возникать при адаптации вируса к определенным условиям, таким, как прокормитель, микроклиматические условия в очаге инфекции и т.д. В частности, для вируса клещевого энцефалита было показано быстрое появление точечных замен в белке Е при адаптации вируса к хозяину, причем такие замены могут носить маятникообразный характер (из-за изменения соотношения преобладающих компонентов квазивида в популяции вируса). Более того, не исключено возникновение идентичных замен у разных вирусов при адаптации к одинаковым условиям. Чтобы исключить влияние подобных факторов, в мировой практике используют либо все, либо только синонимические замены. Оппоненту не известны другие подобные исследования, которые бы отдавали приоритет несинонимическим (аминокислотным) мутациям. Вероятно, что псевдо-конвергентные замены объясняют то, что распределение вирусов по выделенным автором «кластерам» не вполне коррелировало с их филогенетическим группированием (Рис. 4.3 в диссертации). Для снятия этого противоречия автор ввел понятие «кластерона», т.е. кластера, имеющего сходное географическое распространение. Таким образом, инструмент, предназначенный для изучения филогеографии, был определен через филогеографию, т.е. исчезло логическое разделение меры и измеряемого. Именно «кластероны», определенные на основе неприемлемых данных (приоритет

аминокислотной последовательности), без статистического аппарата и с неприемлемыми логическими допущениями, стали основным инструментом для дальнейшего анализа. Для расчета скорости накопления замен был использован метод 1988 года, хотя в настоящее время доступны намного более продвинутые методы. Скорость накопления замен, рассчитанная автором и использованная для обоснования выводов, приблизительно в 10 раз выше, чем опубликованные данные других работ, выполненных с применением современных методов. Кроме того, возможность применения метода молекулярных часов для клещевого вируса, который может менять хозяина (проходить «бутылочное горлышко» и фиксировать замены) пять раз за сезон, а может много лет сохраняться неизменным в кладке яиц, вызывает сомнения. В любом случае, недопустимо в такой ситуации экстраполировать среднюю скорость накопления замен на срок возникновения единичной замены (стр. 161, 10 строчка).

Раздел работы, посвященный филогеографии ВКЭ, содержит еще ряд недопустимых логических связей. В частности, рисунок 4.6, якобы основанный на данных рис. 4.5, на самом деле является вольной художественной интерпретацией рис. 4.5 и не вполне соответствует полученным данным. Более того, не выполнена оценка того, в какой степени большее разнообразие вируса вдоль транспортных путей могло быть причиной более качественной выборки (количество изолятов, распределение по годам, биотопам, поведенческим характеристикам клещей и т.д.).

Таким образом, выводы 1-4 работы о путях распространения ВКЭ не обоснованы представленными данными.

Вывод 6 о «необходимости обязательной генетической паспортизации коллекционных и вакцинных штаммов ВКЭ» является очевидным. Большое количество несоответствий в коллекциях, собранных в

20 веке, в том числе различия многочисленных штаммов «Софбин», хорошо известны в научном сообществе. Эти результаты диссертации не имеют принципиальной новизны и не имеют большого научного значения.

Вывод 7 о разработке «концепции квантовой эволюции ВКЭ» не основан на экспериментальных данных. Оппонент в целом согласен с данной концепцией, но не видит оснований для вынесения ее в выводы работы. Более того, эта концепция является частным случаем общей концепции, представленной в обзоре литературы (рис. 1.5). Обсуждение этого вывода содержит ряд важных и интересных идей, но в отсутствие экспериментального и статистического обоснования концепции их ценность не очевидна.

Выводы 5 и 8 в целом обоснованы, но относятся к области знаний «энтомология», а не «вирусология».

Таким образом, основные выводы диссертационной работы С.Ю. Ковалева не соответствуют критериям доказательной науки, а работа в целом не соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

13 января 2017 г.

зав. лабораторией  
молекулярной биологии  
ФГБНУ «ФНЦИРИП  
им.М.П.Чумакова РАН»

д.м.н., проф. РАН

А.Н.Лукашев

Почтовый адрес: 142782, Россия, город Москва, поселение  
Московский, поселок Института полиомиелита, 27 км Киевского шоссе

тел. (раб.) +7(495)841-9010

e-mail alexander\_lukashev@hotmail.com

*А.Н. Лукашев удостоверяю  
подпись  
А.В. Лукашев*

