

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Вангели Сергея Валерьевича: «Сравнительная ультраструктурная характеристика культур клеток, хронически инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота», представленную на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

**Актуальность выбранной темы.** Актуальность работы обусловлена тем, что лейкоз крупного рогатого скота относится к числу самых распространенных инфекционных заболеваний, при котором отсутствуют специфические средства профилактики. Единственным методом профилактики болезни остаются организационно-хозяйственные мероприятия, направленные на ограничение прямого контакта здоровых животных с инфицированными. Для выявления таких животных, применяют серологические тесты, одним из которых является реакция иммунодиффузии в геле агара. Широкое использование коммерческого диагностического набора, на протяжении ряда лет, показало его эффективность при одолевании стад КРС от лейкоза. Промышленное производство диагностикума основано на использовании, в качестве штамма продуцента, перевиваемой линии клеток FLK-BLV. Однако сегодня стали доступны и другие клеточные линии, хронически инфицированные вирусом лейкоза КРС. Сравнительному изучению одной из таких линий клеток, а именно ЛЭК-ВИЭВ-90, посвящена работа С.В.Вангели.

Основной целью работы стало изучение особенностей клеток перевиваемых линий FLK-BLV и ЛЭК-ВИЭВ-90. Соискатель поставил перед собой задачу получить новые данные о культуральных, морфологических, функциональных, цитогенетических и ультраструктурных свойствах перевиваемых линиях клеток, изучить морфогенез вируса лейкоза крупного

Вх. № 40  
12 марта 2015 г.



рогатого скота и антиген-продуцирующую способность клеточной линии ЛЭК-ВИЭВ-90 в сравнении с клеточной линией FLK-BLV.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** В основе научных положений, выводов и рекомендаций лежат исследования, выполненные соискателем в период 2002-2014 гг. Методическая и экспериментально-техническая база работы чрезвычайно широка и соответствует передовым подходам в этой области. В работе использованы, вирусологические, молекулярно-биологические и иммунологические данные, полученные при изучении культуральных и морфологических свойств перевиваемых линий клеток, в которых наличие вируса лейкоза подтверждено с помощью методов электронной микроскопии.

При этом автор описал сравнительную ультраструктурную организацию клеток двух культур и привел морфологические доказательства процесса почкования, с помощью которого происходит высвобождение вирионов вируса лейкоза во внеклеточное пространство. Заслуживает внимания исследования, связанные с функциональной характеристикой клеточных культур. Данные относительно уровня продукции антигена вируса лейкоза коррелируют с данными электронной микроскопии. Однако при электронной микроскопии обеих культур клеток помимо вируса лейкоза были обнаружены вирионы, по морфологии схожие с вирусом диареи крупного рогатого скота. Дальнейшие молекулярно-генетические исследования подтвердили наличие в культурах РНК вируса диареи.

**Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций.** Высокая степень достоверности результатов не вызывает сомнения. На основании полученных результатов диссертант сформулировал практические предложения и выводы о возможности использования изученных линий клеток в качестве лабораторной модели взаимодействия неродственных РНК-геномных вирусов в условиях смешанной инфекции. Проведенные

цитогенетические исследования позволили определить модальный класс хромосом в клетках культур ЛЭК-ВИЭВ-90 и FLK-BLV, который представлен 52 и 50 хромосомами соответственно. Цифровой материал обработан статистически, показана объективность экспериментальных данных и сделаны обоснованные выводы, логически вытекающие из содержания работы. Таким образом, можно констатировать, что результаты, полученные при решении поставленных задач, обеспечили достижение основной цели исследований – были получены новые данные о культуральных и морфологических свойствах перевиваемых линий клеток и созданы предпосылки замены производственного штамма-продуцента FLK-BLV на отечественный аналог ЛЭК-ВИЭВ-90.

По материалам диссертации опубликовано 4 научных работ, из которых 2 статьи в рецензируемых журналах. Результаты работ были представлены на научной сессии Дальневосточного отделения РАН, Международной научно-практической конференции и заслушаны на ученом совете ВИЭВ.

Диссертация изложена на 114 стр. и состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований и их обсуждения, выводов и практических предложений. Список литературы включает 261 источник, состоящий из 85 работ отечественных и 177 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 35 рисунками и содержит цифровые данные, размещенные в 4 таблицах.

**Новизна научных положений, выводов и рекомендаций.** Научная новизна работы заключается в том, что автор впервые представил результаты изучения субмикроскопической организации клеток линии ЛЭК-ВИЭВ-90, показал продукцию этой культурой гликопротеидного антигена вируса лейкоза крупного рогатого скота. Впервые установил контаминацию культур вирусом бычьей диареи, и способность клеток в условиях смешанной инфекции вирусами диареи и лейкоза формировать морфологически полные вирионы. Перевиваемую линию клеток ЛЭК-ВИЭВ-90 можно использовать

для получения антигена gp51 генотипа вируса лейкоза, циркулирующего в популяции крупного рогатого скота Российской Федерации. С учетом контаминации обеих культур вирусом диареи при изготовлении диагностических тест-систем необходимо исключить в контрольных сыворотках наличие антител против вируса диареи.

Автореферат диссертации отражает основные положения исследования. Принципиальных замечаний по рецензируемой работе нет, однако, некоторые положения требуют уточнения:

- Так на стр. 55 автор сообщает, что продукция культурами p24 антигена в 16 раз выше, чем антигена gp51. Но, в тексте диссертации отсутствует упоминание о методе обнаружения антигена p24 и использовании соответствующей тест-системы.

- Зачем нужно исследовать в ПЦР клетки пяти последовательных пассажей, чтобы установить в них провирусный геном. Для этой цели достаточно исследовать ДНК, выделенную из клеток одного пассажа.

- Почему количественный анализ продукции gp51 в культурах клеток выполнен с помощью РИД, а не ИФА.

- На каком основании автор рекомендует использовать культуру ЛЭК-ВИЭВ-90 в качестве альтернативного источника промышленного производства вирусного антигена, если у нее вирионы вируса лейкоза выявляются существенно реже (стр. 75), уровень содержания генома вируса диареи выше (стр.72), а продукция gp51 ниже (стр.55), чем в культуре FLK-BLV?

- В диссертации имеются опечатки (стр. 25, 53, 82), а на стр. 53 вместо FLK-BLV ошибочно указана ЛЭК-ВИЭВ-90.

Перечисленные замечания не снижают научно-практическую значимость данной диссертационной работы.

**Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней».** Диссертация Вангели С.В.



«Сравнительная ультраструктурная характеристика культур клеток, хронически инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота», является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение конкретных задач, существенных для совершенствования лабораторной диагностики лейкоза крупного рогатого скота и мероприятий по оздоровлению неблагополучных хозяйств Российской Федерации. По своей актуальности, новизне и научно-практическому значению работа соответствует критериям «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор – Вангели Сергей Валерьевич заслуживает присуждения искомой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Профессор кафедры управления качеством и товароведения  
РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева,  
доктор биологических наук

А.Ф.Валихов



ПОДПИСЬ

Валихов

ЗАВЕРЯЮ

СПЕЦИАЛИСТ

Е. А. ОСТРОУХОВА

12.03.2015