

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГАНУ «ВНИМИ»
Председатель Ученого совета
д.т.н., академик РАН

Галстян А.Г.

« 09 » июля 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»
(ФГАНУ «ВНИМИ»)

Диссертация «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» выполнена в Федеральном государственном автономном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГАНУ «ВНИМИ»).

Лазарева Екатерина Германовна, 1996 года рождения, в 2018 году окончила бакалавриат ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)» по специальности 19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья», в 2020 году окончила магистратуру с отличием ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)» по специальности 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья».

В период подготовки диссертации освоила программу подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре ФГАНУ «ВНИМИ» в очной форме по научной специальности 4.3.3 Пищевые системы.

Свидетельство об окончании аспирантуры № 0001 выдано 09.07.2024 г. в Федеральном государственном автономном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности».

Работает младшим научным сотрудником в лаборатории прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов ФГАНУ «ВНИМИ».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Фоменко Олег Юрьевич, заведующий лабораторией прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов ФГАНУ «ВНИМИ».

По результатам рассмотрения диссертации принято следующее заключение:

Представленная диссертационная работа «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных

продуктах» выполнена Лазаревой Е.Г. самостоятельно и является логично обоснованным и закономерным результатом научных исследований.

Соискателем проведён обзор научно-технической литературы, освещающей вопросы безопасности молока, полученного от крупного рогатого скота (КРС) зараженного *Bovine leukemia virus* (BLV), и молочных продуктов. Кроме того, проведён обзор структуры и функционирования генома вируса BLV, представляющий интерес для разработки ПЦР-тест-систем. Установлено, что в настоящее время отсутствуют отечественные наборы реагентов для количественной детекции провирусной ДНК в молоке и молочных продуктах, прошедших термическую обработку.

Проведены исследования существующих коммерческих наборов для выделения ДНК при использовании в качестве стартового материала молока и молочных продуктов и определены их достоинства и недостатки.

Разработан комплект специфических олигонуклеотидов для амплификации фрагмента провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота, выделенной из различных источников. Установлено, что амплификация клонированного в вектор фрагмента провирусной ДНК вируса BLV наблюдалась при использовании всех трёх пар праймеров в динамическом диапазоне от 0,1 нг/мкл до 0,1 пг/мкл ДНК;

доказано, что праймеры ВВР, разработанные в рамках исследования для выявления провирусной ДНК *Bovine leukemia virus*, имеют 100% специфичность, на что указывает отсутствие ложноположительных результатов при тестировании ДНК различных видов патогенной микрофлоры крупного рогатого скота. Произведена оценка ключевых метрологических характеристик разработанной пары праймеров для тест-системы: сходимость результатов амплификации составляет от 0,39% до 3,41% в зависимости от типа исходного образца, воспроизводимость результатов составила 2,3%;

предложена тест-система для детекции провирусной ДНК BLV, включающий в себя все необходимые для проведения анализа реагенты и стандартные образцы. Установлено, что разработанная тест-система устойчива к многократному замораживанию-оттаиванию (коэффициент вариации C_t между 1 и 10 циклами не превышает 4,95%).

При личном участии соискателя определены пробелы в предметном поле исследования, сформулированы цель и задачи исследования, спланированы, организованы и проведены научно-исследовательские работы, получены, обработаны и систематизированы экспериментальные данные. Кроме того, результаты исследований и научные положения основаны на фактических данных и лично подтверждены на практике опытно-промышленной апробацией разработанной методики.

Теоретическая и экспериментальная части работы базируются на общепризнанных принципах и подходах фундаментальной и прикладной науки, а также обобщение передового опыта в области оценки безопасности молока и молочных продуктов. В работе использованы стандартизованные и общепринятые в контроле молочных продуктов методы исследований, изложенные в специализированной литературе, а также оригинальные методы, комплексно обеспечивающие выполнение поставленных задач. Повторность, проведенных исследований, на сертифицированном аналитическом оборудовании свидетельствует о воспроизводимости результатов.

Научная новизна результатов исследования заключается в:

Обосновании пары олигонуклеотидных праймеров, обеспечивающей оптимальный выход специфического ПЦР-продукта при использовании различного стартового материала.

Установлении зависимости порогового цикла от исходной концентрации ДНК, которая сохраняет линейность до предела, соответствующего 28 молекулам-мишеням на реакцию.

Эффективной амплификации фрагмента провирусной ДНК, интегрированной в геном хозяина, выделенной из молочных продуктов, в диапазоне от 10 нг до 1 пг на реакцию.

Теоретическая и практическая значимость работы: Расширена область оценочных критериев безопасности молока и молочных продуктов за счет внедрения ПЦР-анализа, направленного на выявление и количественное определение провирусной ДНК.

Впервые создана отечественная тест-система, позволяющая производить неинвазивный скрининг животных-вирусоносителей и контроль качества молочной продукции.

Разработан и утверждён СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС».

Соискатель имеет 15 работ, опубликованных по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 работы. Основные научные результаты диссертации в работах, опубликованных соискателем, изложены в полной мере.

Диссертация «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» Лазаревой Е.Г. соответствует пункту 17, Паспорта научной специальности 4.3.3 «Пищевые системы» и отвечает критериям, установленным п. 2.1 Федерального закона от 23.08.1996 № 127-ФЗ «О науке и государственной научно-технической политике» и п. 14 Положения о порядке присуждения ученых степеней (утверждено постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 25.01.2024)).

Диссертация «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» Лазаревой Екатерины Германовны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3 «Пищевые системы» (технические науки).

Заключение принято на заседании Ученого совета ФГАНУ «ВНИМИ».

Присутствовало на заседании 18 чел.

Результаты голосования: «за» - 18 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол №10 от «04» июля 2024 г.

Ученый секретарь, д.т.н.

Ольга Борисовна Федотова

Подпись руки О. Б. Федотовой подтверждаю
начальник отдела кадров

Мария Андреевна Маркина

