

Отзыв

на автореферат диссертационной работы Дун Сянли «Экспрессия генов белков иммунной системы рыб в динамике в ответ на бактериальные инфекции», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.06 – ихтиология

Диссертационная работа Дун Сянли, представляемая к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук, посвящена одной из актуальных задач ихтиологии – исследованию специфического иммунитета у представителей приоритетных видов аквакультуры Китая, большого желтого горбыля *Larimichthys crocea*, и России, радужной форели *Oncorhynchus mykiss*, в моделях их распространенных инфекционных заболеваний. Данное исследование направлено на сохранение и поддержание рыбных ресурсов обеих стран, поскольку в последние десятилетия наблюдается беспрецедентное нарастание антропогенной нагрузки на окружающую среду, в том числе на аквакультуру, роль которой в производстве полноценной белковой пищи трудно переоценить. Обнаружено, что инфекционные заболевания различных промысловых видов рыбы, а также культивируемых в искусственных водоемах, вызываемые такими бактериями как *Vibrio anguillarum*, *Vibrio harveyi*, *Aeromonas salmonicida*, вредят аквакультурному сектору экономики, приводят к большим экономическим потерям. Это усугубляется негативным влиянием на рыбные ресурсы, а также опосредованно на ее потребителя, человека, антибактериальных препаратов, используемых для лечения рыбы.

Необходимость изучения вопросов, связанных с углублением и расширением фундаментальных основ антибактериального иммунитета культивируемых видов рыб, разработкой экологически безопасных методов и подходов профилактики и лечения бактериальных инфекций, обусловлена также недостаточными знаниями о структурно-функциональных взаимоотношениях белков иммунного ответа, таких как хемокины (CCL) и маннозные рецепторы (MRC), выполняющие ключевые функции в организме рыб – от связывания патогенов до клеточного сигналинга в различных провоспалительных процессах. Таким образом, актуальность данного исследования не вызывает сомнений.

Задачи, сформулированные автором, в полной мере соответствовали цели исследования. Для ее решения автору было необходимо:

- установить особенности аминокислотных последовательностей и пространственных структур белков-хемокинов, CCL2, CCL3, CCL4, а также маннозных рецепторов, MRC1 и MRC2, у исследуемых видов рыб;
- создать *in vivo* модели вибриоза у *L. crocea* и аэромоноза у *O. mykiss*;
- изучить локализацию и уровни экспрессии генов специфического иммунного ответа *L. crocea* на примере хемокинов CCL2, CCL3, CCL4 в норме и в модели вибриоза;
- сравнить локализацию и уровни экспрессии генов неспецифического иммунного ответа у *L. crocea* и *O. mykiss* на примере маннозных рецепторов MRC1, MRC2 в созданных моделях инфекционных заболеваний.

В соответствии с поставленными задачами автором было проведено комплексное исследование белков иммунного ответа исследуемых видов рыб – хемокинов и маннозных рецепторов.

Были генерированы теоретические 3D-модели пространственных структур хемокинов CCL2, CCL3, CCL4 и маннозных рецепторов MRC1 и MRC2, свидетельствующие о высоком подобии белков иммунного ответа исследуемых видов рыб, что важно для понимания закономерностей их функционирования в организмах различных видов рыб. Впервые были созданы *in vivo* экспериментальные модели двух бактериальных инфекций, на тепловодном и холодноводном видах культивируемых рыб, которые в дальнейшем могут явиться замечательной основой как для поиска и тестирования новых иммуномодуляторов, так и вакцин, повышающих иммунный статус объектов культивирования. Помимо этого впервые были установлены

особенности экспрессии генов, кодирующих белки иммунной системы *L. crocea* и *O. mykiss*, в норме и при патологии в динамике. Было показано также, что разработанные модели вибриоза и аэромоноза рыб могут в дальнейшем использоваться как диагностические тест-системы данных инфекционных заболеваний рыб, в том числе в промышленных условиях.

Полученные данные, безусловно, имеют важное теоретическое значение для прикладной иммунологии, а их практическую значимость трудно переоценить, поскольку они существенно расширяют методологическую базу для дальнейшего изучения белков иммунного ответа из других источников, позволяют углубить понимание механизмов противoinфекционного иммунного ответа рыб, а также контролировать наличие и/или протекание заболеваний у этих видов. Ресурсная обеспеченность является предпосылкой для получения в будущем на основе проведенных исследований новых теоретических данных и практических результатов.

Грамотная постановка цели и задач исследования, анализ собственных результатов и данных о структуре и активности свидетельствуют о хорошем экспериментальном и профессиональном уровне проведенных исследований, определяет адекватность и достоверность полученных данных и сделанных автором выводов. В связи с вышесказанным научная новизна, актуальность, теоретическая и практическая значимость проведенного исследования очевидны.

К сожалению, в автореферате имеются терминологические неточности, к нему также имеются некоторые вопросы и замечания:

- Так, вместо встречающегося в тексте термина «**первичные последовательности**» следовало бы везде употреблять «**первичные структуры**» и «**аминокислотные последовательности**».

- Стр. 9: что подразумевается под «**областью низкой сложности (Low complicity region)**» и термином «**высокоуровневые структуры, закрепленные дисульфидными связями**»? Очевидно, имеются в виду пространственные структуры белков, но что означает **низкий** или **высокий уровень** их структур?

- На стр. 10 в описание модели 3D-структуры вкралась ошибка, поскольку, согласно изображению на рисунке, С-концевая α -спираль перпендикулярна не α -листу, а β -листу. Также правильной было бы называть антипараллельные β -листы **β -тяжами** либо, согласно английской транскрипции, **β -стрендами**.

- На стр. 12 не понятно, о каком аминокислотном остатке идет речь в предложении: «...при ингернализации лиганда и миграции ранних эндосом в клетке играет роль именно **этот остаток**, без которого этот функциональный сайт молекулы инертен (Baoprasertkul, 2005)».

- Стр. 12: в предложении «В последовательностях MRC1 и MRC2 есть **похожие функциональные остатки аминокислот** (рис. 3)», тогда как правильно было бы «**идентичные (или подобные) функционально значимые аминокислотные остатки**».

- Стр.14, рис. 4: что значит термин «**относительная экспрессия**»?

- Стр. 14: вирусную мимическую двухцепочечную полиинозиновую: полицитидиловую РНК принято писать следующим образом: (**поли (I:C)**).

- Стр. 15: неудачно выражение «...**общемировая** литература...».

У меня есть также ремарка по Выводам 1 и 2:

На основании представленных в работе данных, в выводе 1 вряд ли можно утверждать, что **установлены структурно-функциональные взаимосвязи исследуемых белков-хемокинов CCL2, CCL3, CCL4, а также маннозных рецепторов MRC1 и MRC2 рыб**. Для такого вывода совершенно недостаточно лишь перечислить возможные функционально значимые а.о. данных белков без проведения сравнительного анализа функциональной активности этих белков с таковой мутантных по данным остаткам аналогов. Поэтому, скорее, можно говорить о том, что полученные результаты позволяют предположить, что, очевидно, именно **такие-то** аминокислотные остатки (**а именно???**) ответственны за функциональную активность белков

иммунного ответа, и дальнейшие структурные исследования могут пролить свет на их структурно-функциональные взаимосвязи.

Вывод 2 также звучит, на мой взгляд, несколько непонятно: что значит «**высокая степень идентичности** первичных и третичных структур... подтверждает **высокую схожесть этих белков...**»? Схожесть функциональную???

Очевидно, автор имеет в виду все-таки, что «**подобие** функциональной активности (иммунного ответа) маннозных рецепторов является следствием высокой степени их идентичности вне зависимости от среды обитания рыб, продуцирующих эти белки»...

Тем не менее, указанные недочеты не умаляет достоинств представленного исследования. Диссертационная работа носит законченный характер, по всем формальным показателям отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть принята к защите в Диссертационный совет по специальности 03.02.06 – ихтиология.

19.11.21 г.

В.н.с. ТИБОХ ДВО РАН
д.х.н.

Монастырная М.М.

Подпись Монастырная М.М. заверяю:

Уч. секретарь ТИБОХ ДВО РАН
к.б.н.



В.В. Куриленко

Монастырная Маргарита Михайловна, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химии пептидов ТИБОХ ДВО РАН

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН)

690022, Владивосток, Проспект 100 лет Владивостоку, 159

Тел.: (423)310705

эл. почта: office@piboc.dvo.ru