

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Дун Сянли
«Экспрессия генов белков иммунной системы рыб в динамике в ответ на
бактериальные инфекции»,
представленную в диссертационный совет Д 307.007.01 на базе ФГБОУ ВО «КГТУ»
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.06 – Ихтиология

Диссертационная работа Дун Сянли выполнена в развитие одного из актуальных направлений научных исследований современной ихтиологии, связанного с изучением молекулярных механизмов компенсаторных реакций на действие комплекса факторов среды. В основу научного исследования работы заложен один из основополагающих принципов подхода «Единого здоровья» (One Health Approach), согласно которому здоровье компонентов экосистемы определяет общую устойчивость и находится в тесной взаимосвязи со здоровьем человека.

Актуальность темы диссертации. В настоящее время в практике рыбоводства широко применяются препараты с мощным противобактериальным действием, однако их накопление в рыбе негативно сказывается на здоровье человека при употреблении в пищу рыбопродуктов, перенасыщенных антибиотиками. Однако, интенсивно развивающаяся аквакультура требует разработки современных профилактических и терапевтических мероприятий, эффективных для объектов культивирования и безопасных для потребителя рыбной продукции. Это определяет актуальность диссертационного исследования Дун Сянли, значимость и востребованность которого не вызывает сомнений, так как его результаты по изучению активации генов белков иммунного ответа у культивируемых видов рыб на бактериальные инфекции могут быть использованы при разработке экспериментальных моделей для определения эффективности будущих современных биологически активных компонентов, укрепляющих иммунитет рыб. Отмечу, что научное исследование выполнено в лучших традициях рыбохозяйственной науки в России. Результаты диссертационной работы соответствуют приоритетному направлению «Стратегии научного и научно-технологического развития Российской Федерации» в части пункта «г» (Н4) - переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, направленному на разработку и внедрение систем рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений и животных, хранение и эффективную переработку сельскохозяйственной продукции, создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания».

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В своем исследовании Дун Сянли решает задачи, направленные на достижение цели исследования и обосновывает научные положения, выносимые на защиту, основываясь на работах, прошедших рецензирование научным сообществом с использованием апробированных в рыбохозяйственной науке методов. Диссертация представляет завершенное комплексное исследование с использованием двух взаимодополняющих методических подходов: 1 - фундаментальное изучение особенностей первичных и пространственных структур белков иммунной системы рыб современными методами биоинформатики и 3D-моделирования; 2 – практическое изучение уровней экспрессии генов белков иммунной системы рыб в норме и при патологии в моделях различных бактериальных инфекций.

В процессе исследования и в рамках поставленных задач автором выполнен тщательный анализ первичных и пространственных структур целевых белков, позволивший исследовать особенности экспрессии генов белков иммунного ответа в норме и при патологии в сравнительном аспекте у представителей тепловодной и холодноводной аквакультуры, а также в зависимости от локализации в организме рыб. Автором использованы современные экспериментальные методы и продемонстрировано свободное владение инструментами компьютерного моделирования. Объективность интерпретации полученных результатов подтверждена значительным количеством литературных источников.

Выводы и рекомендации, основанные на изучении реакций специфического (адаптивного) иммунитета рыб, являющихся приоритетными объектами аквакультуры Китая и России, в ответ на их распространенные инфекционные заболевания, проведенном анализе и интерпретации полученных данных, являются достоверными и имеют достаточную степень обоснованности.

Научная новизна и достоверность результатов диссертационного исследования. Настоящая диссертационная работа посвящена исследованию противовоспалительных белков иммунной системы рыб - хемокинов (CCL) и маннозных рецепторов (MRC), а полученные результаты существенно дополняют и расширяют существующие на данный момент знания о фундаментальных основах противобактериального иммунитета у водных организмов. Все полученные результаты диссертационной работы имеют характер новизны. В диссертационной работе Дун Сянли впервые построены *in silico* теоретические пространственные структуры белков иммунного ответа: хемокинов CCL2, CCL3, CCL4 и маннозных рецепторов MRC1 и MRC2 у двух коммерчески значимых видов рыб – большой желтый горбыль и радужная форель, выращиваемых в аквакультуре Китая и России

соответственно. Особый эффект новизны в ряду моделирования бактериальных инфекций у рыб имеет представленные впервые в настоящей работе *in vivo* модели вибриоза и аэромоноза, одних из наиболее часто встречающихся бактериальных инфекций на рыбохозяйственных предприятиях, на исследуемых видах рыб. Именно эти данные могут лечь в основу прикладных исследований новых иммуномодуляторов, а также вакцин, повышающих иммунный статус объектов культивирования. Отдельно следует подчеркнуть те, результаты диссертационной работы, которые позволили установить взаимосвязь между структурой и функцией белков иммунной системы, а также выявить особенности экспрессии генов белков иммунной системы большого желтого горбыля и радужной форели в норме и при патологии в динамике. Ранее такие сведения отсутствовали. Кроме того, в диссертационной работе Дун Сянли использован междисциплинарный подход, исследование выполнено на высоком методическом и теоретическом уровне с использованием знаний в области ихтиологии, генетики, иммунологии и искусственного разведения рыб.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты диссертационной работы Дун Сянли, позволившие провести анализ иммунного ответа генов хемокинов большого желтого горбыля и маннозных рецепторов радужной форели в моделях вибриоза и аэромороза существенно дополняют имеющиеся знания о развитии заболеваний промысловых и культивируемых видов рыб в динамике и вносят вклад в проведение дальнейших исследований в области их иммунитета и механизмов общей иммунной регуляции. Кроме того, результаты исследования могут быть использованы при составлении учебников и учебных пособий для общебиологических специальностей ВУЗов. Следует упомянуть, что некоторые результаты диссертационной работы уже используются в учебном процессе и включены в программу курса: «Основы аквакультуры», что демонстрирует научный вес и значимость работы, представленной к защите. Практическая значимость диссертационной работы Дун Сянли не вызывает сомнений, поскольку объект исследования – виды рыб, выбранные для исследования, являются приоритетными объектами культивирования в аквакультуре Китая и России, а изученные заболевания - одни из самых распространенных в рыбоводных хозяйствах. Полученные в диссертации результаты могут получить широкое распространение в качестве тест-систем для оперативной диагностики вибриоза и аэромоноза рыб в промышленных условиях. Более того, полученные результаты могут быть использованы при разработке рекомендаций по профилактике и терапии инфекционных болезней рыб в условиях аквакультуры с учетом экологических особенностей региона и объектов культивирования.

Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней». Диссертационная работа имеет традиционную структуру и состоит из введения, 3-х глав, включающих «Обзор литературы» (глава 1), «Материалы и методы исследования» (глава 2), «Результаты и обсуждение» (глава 3), «Выводы», «Список литературы», а также "Список сокращений". Список литературы насчитывает 216 источников, из которых 204 – на иностранных языках. Общий объем работы - 131 страница машинописного текста, 5 таблиц и 38 рисунков. Структура работы отражает единство и логику поставленных задач, обоснованность научных положений, полученных результатов и сделанных на их основе выводов. С решением поставленных задач диссертант успешно справился. Сформулированные выводы базируются на достоверно подтвержденных результатах проведенных исследований.

Список публикаций по теме диссертации представлен 11 печатными работами, 6 из которых входят в базу Science Citation Index (SCI) и перечень, рекомендованный ВАК, а также автором опубликовано 5 статей и тезисов в материалах научных конференций.

Результаты диссертационной работы Дун Сянли были представлены в форме различных типов докладов на международных и всероссийских научных мероприятиях по тематике исследования.

Содержание автореферата соответствует материалу, представленному в диссертационной работе Дун Сянли. Диссертация соответствует специальности, по которой она представлена к защите.

Во «Введении» автором обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи, раскрыта научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту. Основная цель представленной работы – изучение реакций специфического (адаптивного) иммунитета рыб, являющихся приоритетными объектами аквакультуры Китая и России, в ответ на их распространенные инфекционные заболевания. Кроме того, «Введение» включает сведения об апробации работы, личном вкладе автора, публикациях, объеме и структуре диссертации, что также позволяет составить представление о масштабах и актуальности исследования, значимость и востребованность которого не вызывает сомнений.

Глава 1 «Обзор литературы» освещает вопросы, охватывающие широкий спектр проблем, связанных с темой диссертации: организация иммунной системы рыб, молекулярные механизмы ее регуляции и ключевые функции белков иммунного ответа. Представлены приоритетные подходы и современные методы профилактики и борьбы с инфекционными заболеваниями рыб в мировой практике. Обозначены главные задачи,

стоящие при разработках новейших эффективных препаратов для иммунизации рыб. Отражены вопросы современного состояния и проблемы аквакультуры в Китае и России, подводящие к постановке проблемы и выбору объектов исследования - большого желтого горбыля и радужной форели. Данная глава хорошо иллюстрирована, представлены наглядные схемы, некоторая информация собрана в таблицы, что позволяет воспринимать сведения и знания цельно и полномерно.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» подробно описывает теоретическую часть, базирующуюся на анализе первичных последовательностей исследуемых белков, полученных экспериментальным путем и депонированных в геномном банке, и экспериментальную часть исследования, выполненную на большом желтом горбыле и радужной форели, путем создания *in vivo* моделей заболеваний вибриоза и аэромоноза. Особо следует отметить полноту описания эксперимента, корректность объема выборки материала для исследования, адекватность подбора и применения современных методов молекулярно-генетического анализа и статистической обработки результатов, которые в дальнейшем обусловили достоверность выводов.

В главе 3 «Результаты и обсуждение» детально изложены результаты анализа пространственной структуры белков-хемокинов большого желтого горбыля и маннозных рецепторов большого желтого горбыля и радужной форели, а также особенности экспрессии генов в норме и при бактериальной инфекции. Большой иллюстративный материал, демонстрирующий пространственную структуру изученных белков, свидетельствует о трудоемкости и обстоятельности исследования. Особенности и закономерности экспрессии генов белков иммунного ответа исследованы в нескольких повторностях и их достоверность подтверждена статистически. Автором представлена верификация и соотнесение полученных результатов с имеющимися данными в литературе и мировым опытом, что позволяет судить об обоснованности интерпретации полученных данных.

Завершают диссертацию пять обоснованных выводов, сформированных на основе результатов проведенного исследования. Выводы диссертации, основанные на большом количестве данных, в достаточной степени передают достижения соискателя, содержащиеся в работе, научную целеустремленность и упорство в достижении цели исследования.

Закончу, что поставленные в диссертации Дун Сянли задачи успешно выполнены, цель работы достигнута. Результаты исследования, полученные на основе анализа обширного фактического материала с использованием адекватных статистических методов, являются принципиально новыми, а их достоверность не вызывает сомнения.

В целом по диссертации можно сделать несколько замечаний и адресовать автору возникшие вопросы:

1. Согласно выводу 2 диссертационной работы на основе полученных результатов установлена высокая степень идентичности первичных и третичных структур маннозных рецепторов MRC1 и MRC2 у исследованных видов – желтого горбыля и радужной форели, при этом вывод завершается утверждением о том, что такая схожесть белков не является видоспецифичной и не зависит от среды обитания. Что автор имеет в виду под «средой обитания» в данном случае? Или, может быть, имелись ввиду условия обитания? Если последнее, то какие конкретно условия обитания и почему? Или автор такой формулировкой пытался подчеркнуть отсутствие зависимости от условий среды, в частности, температуры? Требуется пояснение автора. Далее, можно ли предположить экстраполяцию полученных данных на другие виды лососевых рыб, выращиваемых в аквакультуре северных регионов России?
2. Некоторые разделы диссертации страдают наличием неудачных формулировок или обсуждением результатов разговорным стилем. Приведу примеры, «**Что касается взаимосвязи между ...**» (раздел 3.1., стр. 88), «**Эти результаты показали...**» (раздел 3.2.3., стр. 92).
3. На рисунках 31, 32, 35 очень мелкие подписи по осям ординат при этом рисунок 38 имеющий схожие размеры не страдает от каких проблем.

Указанные замечания не являются принципиальными и не снижают общего положительного впечатления о работе.

Заключение по диссертационной работе.

Диссертационная работа Дун Сянли вносит значительный вклад в развитие теоретической и прикладной ихтиологии и является самостоятельным законченным научным исследованием. Актуальность темы, научная новизна, теоретическое и практическое значение работы не вызывают сомнений и полностью отражены по ходу изложения материала и результатов в диссертационной работе. Результаты, полученные автором, достоверны, выводы, сформулированные на основе полученных материалов, окончательно обоснованы, апробированы на ряде конференций разного статуса. Выводы корректны и обоснованы. Основные положения диссертации отражены в автореферате и 11 публикациях, включая 6 статей в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. По актуальности, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация соответствует

