

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию МИРОНОВА Тимофея Ивановича «**Новая модельная симбиотическая система инфузория *Paramecium multimicronucleatum* / бактерия *Ca. Trichorickettsia mobilis***», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

Диссертация Т.И. Миронова, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, посвящена исследованию проблем симбиотических взаимодействий протистов и бактериальных симбионтов. Работа построена на основе анализа одной симбиотической системы, но затрагивает целый спектр важных аспектов тесных взаимодействий эукариотных клеток-организмов с бактериями. Не случайно исследование взаимодействия в таких системах вызывает неизменный и традиционный интерес специалистов зоологов, микробиологов, протистологов и, конечно, исследователей различных аспектов клеточной биологии. Ведь именно анализ симбиотических систем является эффективным инструментом, позволяющим детально анализировать тонкости функционирования организма-хозяина и симбионта через их взаимодействие. Все это определяет актуальность представленной темы и ее разработки в диссертационном исследовании.

Диссертация построена как презентация новой симбиотической модели *Paramecium multimicronucleatum* - бактерия *Ca. Trichorickettsia mobilis*. Именно так в разделе «Введение» сформулирована основная цель работы. Поэтому важной особенностью работы является детальное исследование взаимодействующих организмов: видовой и клоновой принадлежности хозяев, а также определение таксономического положения симбионта. Последний оказывается представителем риккетсий, особенности которого позволяют обоснованно говорить о новом для науки виде бактериальных симбионтов. Это, а также все данные о взаимодействии описанных симбионтов с клеткой хозяина, представляют новую информацию о симбиотических системах, сформированных протистами и прокариотами и обосновывают научную новизну данных квалификационной работы.

В работе использован современный и адекватный методический арсенал, позволяющий получать надежные результаты. Отметим разнообразие методик, которые использованы в исследовании. Это разнообразные навыки в ведении клоновых культур инфузорий и манипуляции с ними, включая экспериментальное заражение бактериями. Это различные методы микрофотографирования, включающие различные режимы световой микроскопии, конфокальную лазерную сканирующую, трансмиссионную электронную, атомно-силовую микроскопию. Это молекулярные методы анализа ДНК маркерных последовательностей и последующий филогенетический анализ данных, изготовление тотальных препаратов, *in situ* гибридизация, экспериментальные воздействия спектром антибиотиков, экстракция, фракционирование пептидного комплекса, анализ активности фракций. Можно сказать, что применяемая в диссертационном исследовании совокупность методов представляет солидную основу для выводов, формулируемых в работе.

Одна из особенностей представленной работы – значительный объем раздела «Обзор литературы», составляющего почти половину представленной квалификационной работы. На мой взгляд это очень важная часть рукописи, показывающая уровень самостоятельности автора, владение данными литературных источников, а главное, понимание того контекста, в котором далее будут рассматриваться собственные результаты. Поскольку мои научные интересы были ранее связаны отчасти с проблемами

симбиоза, я с большим интересом читал этот раздел. Автор начинает с общих размышлений над понятием симбиоз. Затем дает краткий и лаконичный обзор взаимодействий различных групп протистов с симбионтами различных таксономических групп. Наиболее подробные разделы обзора связаны, безусловно, с симбионтами Ciliophora. Автору приходится по необходимости рассуждать о симбиогенетической гипотезе происхождения эукариотной клетки, затрагивать иные эволюционные концепции становления симбиотических взаимодействий протистов. В целом этот раздел рукописи доносит отчетливый авторский взгляд на проблемы, иллюстрирует разнообразие механизмов взаимодействий. Полагаю, что раздел может послужить основой для публикации неплохого обзора о симбионтах протистов, который был бы весьма полезен для широкого круга биологов.

Результаты, представленные в отдельном разделе рукописи, хорошо иллюстрированы результатами различных анализов. Не вызывает сомнения обоснованность утверждений, которые автор делает на основе различных методических подходов. Результаты представляют новые данные об особенностях строения бактериального симбионта. Наличие жгутиков у бактерий, обеспечивающих их подвижность в ядре инфузорий, заставляют расширить представления о диагнозе Rickettsiaceae. Взаимодействие хозяина и симбионта свидетельствуют о их тесной связи, которая не нарушается воздействием различных антибиотиков и фракций антимикробных пептидов. Загадочные вирусные частицы, неизменно присутствующие в цитоплазме интактных бактерий заставляют размышлять о вовлеченности вирусов во всю компоновку взаимодействий в системе. При этом (ожидаемо для описания свойств новой системы) остающиеся неясными вопросы тоже имеются и заставляют думать о продолжении исследований. Вероятно, главный – вопрос о распространении симбионтов: единственный ли способ их передачи «вертикальная» трансмиссия при цитокинезе и что происходит при прохождении клетки хозяина через половой процесс.

Ниже я отмечу несколько мелких замечаний и вопросов к диссертанту, которые возникли по ходу чтения манускрипта.

Автор пишет, что употребление понятия симбиоза «отражает недостаточную изученность взаимоотношений между хозяином и симбионтом» (с. 12). На мой взгляд, необходимость такого общего понятия как раз и обусловлена наличием целого спектра взаимодействий, для которых применение более конкретных понятий паразитизм, комменсализм или мутуализм просто невозможно.

На протяжении всей рукописи автор оперирует старыми таксонами высшего уровня – царствами (растения, животные, грибы). Было бы правильнее (и точнее) шире использовать принятую ныне систему таксонов высшего ранга.

В заключительной части работы автор упоминает «правильно уложенные вирусные капсиды» в цитоплазме (с. 88), хотя на протяжении всей работы говорится только о тельцах, напоминающих вирусы. Имеются ли у автора доказательства вирусной природы частиц?

Невозможность воздействовать активными веществами отдельно на бактерий и хозяина (получить клетку хозяина, освобожденную от бактерий) автор рассматривает как преимущество модельной системы. Однако в чем здесь преимущество? На мой взгляд было бы интереснее исследовать свойства хозяина, «очищенного» от бактерий.

Необходимо проверить валидность подписи, обозначающей масштаб на рис. 7. Возможна ошибка.

Положение 1, выносимое на защиту – это просто констатация факта описания. Вряд ли стоит выносить это утверждение в данный раздел.

Как видно из поставленных вопросов – они являются либо уточняющими либо дискуссионными. Еще раз отметим, что в целом диссертация представляет исследование, построенное на собственных, оригинальных данных, наглядно показывает уже достигнутый профессионализм исследователя. Результаты, изложенные в диссертации, опубликованы в открытой печати в достаточно известных периодических изданиях. Таким образом, диссертация Миронова Тимофея Ивановича «Новая модельная симбиотическая система инфузория *Paramecium multimicronucleatum* / бактерия *Ca. Trichorickettsia mobilis*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, полностью соответствует требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 № 6821/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Миронов Тимофей Иванович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология. Пункт 11 указанного Порядка диссертантом не нарушен.

Председатель диссертационного совета
Доктор биологических наук, доцент,
Профессор, заведующий кафедрой Зоологии беспозвоночных



А.И.Гранович
24.01.2024