

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЭКОЛОГИИ И ЭВОЛЮЦИИ им. А.Н. СЕВЕРЦОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИПЭЭ РАН)**

119071, Москва, Ленинский проспект, дом 33
Тел. 8 (495) 633-09-22, 8 (495) 954-28-21, 8 (495) 952-20-88
Факс 8 (495) 954-55-34, e-mail: admin@sevin.ru
www.sev-in.ru

26.08.2024 № 12510- 03-02/86

На № 01/1-39-9267 от 21.06.2024



«УТВЕРЖДАЮ»
Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института проблем экологии и
эволюции им. А.Н. Северцова РАН
(ИПЭЭ РАН)

д.б.н., член-корреспондент РАН


С.В. Найденко

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Елизаветы Кирилловны Скалон «Молекулярно-генетический и морфологический анализ природы плазмодия ортонектид (Orthonectida)», представленной к защите по специальности 1.5.17. «паразитология» на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Е.К. Скалон содержит результаты ее исследований по одной из групп паразитических организмов, строение которых сильно изменено паразитическим образом жизни. В вводной части диссертации Е.К. Скалон справедливо отмечает важность изучения самого феномена паразитизма, который являет собой выразительный пример способности организмов не только к смене своего положения в экосистемах, но и способности к очень быстрым эволюционным изменениям. Диссертант справедливо отмечает, что изучаемые ею ортонектиды относятся к тем формам паразитов, для которых отсутствуют переходные

формы, которые позволили бы проследить их эволюционный путь от первично свободноживущих организмов к столь специализированным паразитам. Действительно, ортонектиды демонстрируют значительное упрощение организации, сохраняя при этом весьма сложный жизненный цикл с чередованием бесполого и полового поколения. При этом даже при таком значительном упрощении строения, паразитические стадии ортонектид отличаются значительной цитологической сложностью: цитоплазма плазмодия (паразитической стадии ортонектид), наряду с типичными клеточными органеллами, включает также и развивающиеся эмбрионы следующей – половой – стадии. Именно из этих зародышевых клеток формируются самцы и самки, выходящие во внешнюю среду для копуляции. Потомство этой свободноживущей стадии и заражает новых хозяев. Таким образом, несмотря на значительное упрощение строения, жизненный цикл ортонектид сложен и включает как паразитическую, так и свободноживущую стадию. Эта их особенность делает возможной сравнительную оценку паразитической и свободноживущей стадии. Именно в сравнении экспрессии генов на этих стадиях заключается редкая возможность реконструкции эволюционных процессов перехода свободноживущих форм к паразитизму.

В вводной части диссертации Е.К. Скалон дает краткий обзор классических и недавно полученных результатов по ортонектидам, что позволяет ей сформулировать основные задачи исследования и подчеркнуть актуальность темы. Ею справедливо отмечен дефицит сведений по паразитической стадии ортонектид, что и обуславливает выбор именно этой стадии, как основного объекта изучения. Основная цель исследования определена в достаточно общей форме, как проведение «комплексного анализа природы плазмодия ортонектид» с использованием молекулярно-генетических и морфологических методов. Отраженные в диссертации задачи исследования вполне логично соотносятся с этой целью. Это и сбор материала в природе (зараженных немертин), их содержание в лабораторных условиях, а также изучение строения плазмодия этих ортонектид с помощью оптической (световой) микроскопии и трансмиссионной электронной микроскопии, гистологических методов, методов конфокальной, серийной сканирующей электронной микроскопии и иммуногистохимии. Были также применены методы изучения генома и транскриптома ортонектид, а именно, поиск и аннотация генов ортонектид, экспрессирующихся на паразитической стадии. Данные для этого анализа были получены на основе РНК-секвенирования.

Отражая теоретическую и практическую значимость своей работы, Е.К. Скалон справедливо отмечает фундаментальную важность изучения эволюционных процессов

Отражая теоретическую и практическую значимость своей работы, Е.К. Скалон справедливо отмечает фундаментальную важность изучения эволюционных процессов перехода свободноживущих организмов к паразитическому образу жизни. Действительно, ортонектиды представляют собой одну из самых необычных паразитических групп. Получение столь существенного массива новых данных по этой своеобразной группе паразитов является значительным шагом вперед для всей паразитологической науки. Насколько изучение ортонектид имеет практическое значение, судить труднее. И все же надо согласиться с диссертантом в высказанном ею предположении, что изучение, как она выразилась, паразит-ассоциированных генов ортонектид может в результате вывести мировую науку на новые «мишени» для противопаразитарных препаратов. Действительно, если в генетических основах возникновения и эволюции паразитизма будут выявлены единые молекулярно-генетические черты, то и поиск уязвимых мест в жизненных циклах паразитов может приобрести более планомерный, научно обоснованный, характер.

Отражение достигнутой научной новизны в работе Е.К. Скалон дано в традиционной форме, но при этом весьма информативно и убедительно. Отражены новые методы, ранее для изучения паразитической стадии ортонектид не применявшиеся (иммуногистохимия, серийная сканирующая электронная микроскопия и анализ данных РНК-секвенирования). Заметим, что отбор проб для секвенирования РНК проводился из трех образцов, в том числе из зараженного и незараженного хозяина и половых особей ортонектид. Данные подверглись исчерпывающему биоинформатическому анализу, включающему контроль качества прочтений, сборку транскриптомов, выравнивание в сравнении с референсными геномами, анализ дифференциальной экспрессии генов и функциональную аннотацию белков. Вершиной этого анализа стало выявление генов ортонектид, экспрессирующихся исключительно на паразитической стадии жизненного цикла.

Вводная часть диссертации завершается несколькими необходимыми для таких работ формальными позициями. Это, во-первых, список опубликованных работ и других методов апробации результатов исследования. Среди научных встреч, на которых была представлена эта работа, отметим такие представительные, как Международная конференция «Bioinformatics: From Algorithms to Applications» 2021 года и Тринадцатый мультиколлоквиум по паразитологии. По результатам исследования опубликованы три статьи в рейтинговых международных журналах *Journal of Morphology*, *Evolution and Development* и *Journal of experimental zoology. Part B, Molecular and developmental evolution*. Все эти журналы являются ведущими в области подобных (комплексных – морфология и

молекулярные данные) исследований, и усилия диссертанта в отношении публикационной активности можно считать достаточными. Важно отметить, что диссертант аккуратно отмечает долю своего вклада, которые во всех случаях был основным, но при этом отмечает и участие в некоторых этапах старших коллег.

Дальнейший анализ диссертации будет приведен по отдельным главам работы.

Традиционно, основной текст диссертации начинается с «Обзора литературы». Эта прекрасно написанная часть общего текста (шесть страниц) сопровождается элегантно рисунком, поясняющим жизненный цикл ортонекид (рисунок заимствован из статьи научного руководителя, но модифицирован диссертантом). Читается эта глава легко и с интересом. Отражено участие нескольких крупных зоологов в изучении этой группы (Коллери, Мечников, Юджин Козлов), что, как представляется, подчеркивает преемственность в развитии мировой зоологии. Очень живо отражена в диссертации научная дискуссия (Козлов – с одной стороны, Слюсарев и Миллер – с другой) о природе плазмодия (клетка хозяина или паразитический многоядерный организм).

Столь же традиционна, как и предыдущая, глава третья «Материалы и методы» (4 страницы текста). Диссертант не тратит много места в тексте на изложение особенностей традиционных методик, но более детально отражает особенности проведения молекулярно-генетического анализа, включавшего анализ экспрессии гена. Глава сопровождается цветной схемой, отражающей особенности сбора проб на секвенирование.

Центральная глава диссертации – «Результаты» – изложена на 14 страницах текста, сопровождается 9 рисунками, включая фотографии гистологических препаратов и изображения, полученные в просвечивающем электронном микроскопе, а также три диаграммы, отражающие локализацию и возможные функции выявленных белков. Хотелось бы отметить требовательное отношение диссертанта к подбору рисунков. Все они информативны и совершенно необходимы для понимания написанного. Можно сказать, что текст главы сопровождает и «ведет» читателя в этом массиве совершенно новой научной информации.

Диссертационная работа завершается главой «Обсуждение». Это изложенный на 11 страницах текста подробный анализ полученных данных и сравнение их с литературными. Изложение сопровождается тремя цветными схемами, которые представляют собой несколько измененные рисунки из статьи 2023 года в *Journal of Morphology*, где диссертант является первым автором. Диссертант детально анализирует полученную ультраструктурную информацию, сравнивая ее собственные данные с данными по другим ортонектидам. Рассуждения ее о возможном функциональном значении представляются

весомыми и значимыми для науки. Так, интересны представления диссертанта о возможной принадлежности везикул, локализующихся рядом с плазмодием. В особенности новыми и современными являются положения диссертации, основанные на анализе экспрессии генов плазмодия. Диссертант подробно анализирует плазмодий-специфичные гены, выявленные в ее работе. От общих предположений о паразито-хозяйных отношениях диссертант в ее работе может перейти в непосредственному анализу экспрессирующихся в плазмодии генов. Ею показано обилие среди выявленных белков тех, что связаны с эндоцитозом, экзоцитозом и транспортом везикул, т.е. именно теми явлениями, которые выявляются на ультраструктурном уровне. Многочисленные метаболические ферменты, по обоснованному предположению автора работы, обеспечивают обмен веществ, рост плазмодия и развитие половых стадий. Именно преобладание экскреторно-секреторных белков, транспортерных и рецепторных белков указывает на интенсивное взаимодействие между хозяином и паразитом. Значительный интерес, к примеру, представляет изучение мембранных белков поверхности плазмодия, возможно, обеспечивающих перенос сигналов (простых молекул) между плазмодием и хозяином. Диссертант предполагает, что часть этих белков связаны с мембраной, которая отделяет развивающееся половое поколение ортонектид от собственно плазмодия. Это, таким образом, указывает на наличие особых молекулярных механизмов коммуникации между бесполой и половой стадиями жизненного цикла.

В последнем пункте «Обсуждения» 5.3. диссертант возвращается к дискуссии о природе плазмодия. Детальный анализ как ультраструктурных данных, так и результатов анализа экспрессии генов позволяют диссертанту убедительно свидетельствовать в пользу понимания природы плазмодия как тканевого паразита, в котором происходит развитие половых особей ортонектид. Это положение сопровождается информативным и красивым рисунком 17. Несомненную познавательную ценность представляет и положение диссертации о возможных механизмах расселения паразитического плазмодия в тканях хозяина (Рис 18).

Работа совершается «Заключением», изложенным на полутора страницах, в котором в конденсированной форме отражены основные результаты диссертации, и «Выводами», где сходные положения представлены в дискретной форме, в виде отдельных позиций. Всего дано четыре вывода, лаконичных и точно отражающих достижения диссертанта.

Диссертация завершается «Благодарностями» и «Списком литературы». Последний составлен очень аккуратно, что подчеркивает тщательность диссертационной работы.

Как изложение всякой крупной исследовательской работы, диссертация Е.К. Скалон содержит незначительное количество мелких редакционных недочетов. Впрочем,

неудовлетворенность теми или иными техническими моментами со стороны коллег, подготавливающих отзывы, всегда носит субъективный характер. И все же, представляется, что во фразе «В 1908 году Морис Коллери вместе с Альфонсом Лаваль [39]...» следовало бы использовать падежное окончание «с Лавалем». Не удалось также понять, о каком пункте идет речь в подписях к рисунку 18 («Пунктиром показано первое задокументированное появление дополнительной мембраны плазмодия»): на Рис. 17 пунктир есть, а на Рис. 18 нами не обнаружен.

Обобщая все сказанное выше, можно отметить, что диссертация Елизаветы Кирилловны Скалон «Молекулярно-генетический и морфологический анализ природы плазмодия ортонектид (*Orthonectida*)» представляет собой значительный вклад в понимание одной из наиболее необычных групп паразитических организмов – ортонектид. Актуальность изучению этой группы придает далеко заведшее упрощение клеточной структуры этих паразитов, при сохраняющейся сложности их жизненного цикла и паразито-хозяйинных отношений. Упрощение клеточной организации ортонектид действительно придает им особую привлекательность в качестве объектов для изучения молекулярно-биологических основ взаимоотношений с хозяином. Выявленные диссертантом особенности экспрессии отдельных генов и функционального значения соответствующих белков создают основу для выявления уязвимых молекулярных мишеней в жизненном цикле высокоспециализированных паразитов. Положения диссертации могут быть использованы при преподавании курсов зоологии и паразитологии в высших учебных заведениях Российской Федерации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Елизаветы Кирилловны Скалон «**Молекулярно-генетический и морфологический анализ природы плазмодия ортонектид (*Orthonectida*)**» является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методическом уровне с использованием самых современных методов исследования. Результаты, полученные при выполнении диссертационного исследования, представляют высокую значимость для решения проблем эволюции, в части реконструкции возникновения паразитизма у животных. Диссертационная работа по своему содержанию, актуальности, уровню научной новизны, методическому уровню исполнения и практической ценности полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, как квалификационным работам в Российской Федерации. Нет сомнений в том, что автор этой диссертационной работы – Елизавета Кирилловна Скалон заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук.

Отзыв на диссертационную работу Е.К. Скалон заслушан, обсужден и одобрен на межлабораторном коллоквиуме лабораторий эволюции и систематики паразитов и экологии, фауны паразитов и экспериментальной паразитологии Центра паразитологии ИПЭЭ РАН 20 августа 2024 года (протокол № 19 от 20.08.2024).

Исполняющий обязанности директора

Центра паразитологии ИПЭЭ РАН

д.б.н.



/ С.Э. Спиридонов /

Секретарь межлабораторного коллоквиума,

Кандидат биологических наук

/Иванова Е.С./

Подписи Спиридонова С.Э. и Ивановой Е.С. удостоверяю

Ученый секретарь ИПЭЭ РАН

Доктор биологических наук

/Феоктистова Н.Ю./

Сведения о составителе отзыва:

Спиридонов Сергей Эдуардович, доктор биологических наук (1.5.17. - «паразитология») главный научный сотрудник лаборатории систематики и эволюции паразитов, исполняющий обязанности директора Центра паразитологии (филиала), Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)

Адрес: Москва, 119049, Мытная ул. дом 28. стр. 1.

Тел 8(916) 948 72 01 s_e_spiridonov@rambler.ru

Сведения о секретаре межлабораторного коллоквиума:

Иванова Елена Сергеевна, кандидат биологических наук (1.5.17. - «паразитология») старший научный сотрудник лаборатории систематики и эволюции паразитов Центра паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)

Сведения о лице, утвердившем отзыв:

Найденко Сергей Валериевич, доктор биологических наук (1.5.12. - «зоология»), член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)

Дата 2 сентября 2024 года.