

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Долгих Вячеслава Васильевича “Биохимические и структурно-функциональные адаптации энтомопатогенных микроспоридий рода *Paranosema* к внутриклеточному паразитизму”, представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.11 – паразитология

Диссертация В.В. Долгих посвящена изучению биохимических и структурно-функциональных особенностей микроспоридий – обширной группы внутриклеточных облигатных паразитов животных и ряда протистов. Микроспоридии – чрезвычайно интересные модели для фундаментальных исследований паразито-хозяйинных отношений. На этапе пролиферации в клетке хозяина для этих паразитов характерны крайнее упрощение и редукция многих структурных компонентов клетки и собственных метаболических процессов. В то же время, инвазионная стадия жизненного цикла микроспоридий представляет собой высокоспециализированную сложноустроенную спору, обеспечивающую выживание паразитов во внешней среде и уникальный механизм проникновения в клетку хозяина. Эти паразиты имеют также большое практическое значение для медицины, ветеринарии и сельского хозяйства, так как вызывают серьезные заболевания хозяйственно-важных беспозвоночных, рыб и теплокровных животных, включая человека. Изучение энтомопатогенных микроспоридий, регулирующих численность популяций вредителей сельскохозяйственных культур, особенно актуально для микробиологической защиты растений.

В середине 90-х гг., когда В.В. Долгих приступил к изучению энтомопатогенных микроспоридий, практически ничего не было известно ни об особенностях метаболизма этих паразитов, ни об их влиянии на обменные процессы в клетке хозяина. Как становится понятно после прочтения автореферата, в ходе многолетних глубоко продуманных исследований соискателю удалось изучить особенности энергетического и углеводного обмена микроспоридий, проследить перестройку метаболических процессов в ходе жизненного цикла паразитов, продемонстрировать их глубокую интеграцию с метаболической системой хозяина, выявить уникальные структурно-функциональные особенности секреторного аппарата микроспоридий и механизмы формирования сложноустроенной споры, особенности ее метаболизма при выживании паразитов во внешней среде и при

быстрой активации в подходящих условиях, показать целенаправленное воздействие микроспоридий на клетку хозяина с помощью секретируемых белков и исследовать роль последних в управлении зараженной клеткой. Совокупность результатов, полученных в ходе проведенного автором комплексного исследования, – это крупное научное достижение, серьезный прорыв в изучении микроспоридий. В результате проведенной работы удалось получить целостную картину биохимических и структурно-функциональных адаптаций энтомопатогенных микроспоридий к внутриклеточному паразитизму в прямокрылых насекомых, а также представить молекулярные механизмы их патогенного воздействия на зараженную клетку.

Судя по автореферату, диссертационная работа поражает глубиной проработки проблемы. В качестве особо сильных сторон хотелось бы отметить ряд моментов.

- Соискателю впервые удалось идентифицировать рудиментарную митохондрию — митосому — в спорах микроспоридий из рода *Paranosema* и показать наличие альтернативной электрон-транспортной дыхательной цепи в этой органелле.
- В.В. Долгих смог доказать глубокую зависимость энтомопатогенных микроспоридий от метаболической системы насекомых, подтвердив тот факт, что микроспоридии — это «энергетические паразиты», которые получают АТФ непосредственно из клетки хозяина, используя для этого уникальные переносчики, встроенные в цитоплазматическую мембрану.
- В научных трудах с участием В.В. Долгих, посвященных изучению морфо-функциональных особенностей секреторного аппарата микроспоридий, впервые показана роль тубулярных кластеров и продемонстрировано отсутствие изолированных транспортных везикул во внутриклеточном транспорте этих организмов, а также была обнаружена минимизация аппарата гликозилирования белков.
- Впервые доказана способность микроспоридий секретировать в цитоплазму клетки хозяина различные белки, которые могут включаться в управление физиологическими и молекулярно-генетическими процессами хозяина.

Важно подчеркнуть, что полученные в диссертации результаты имеют фундаментальное значение для выяснения особенностей патогенного воздействия микроспоридий на зараженную клетку и организм хозяина в целом и для раскрытия молекулярных механизмов, позволяющих паразитам эффективно эксплуатировать метаболическую систему хозяина.

Данные диссертации имеют и практическое значение. Изученные автором уникальные ферменты микроспоридий — альтернативная оксидаза и пируватдегидрогеназа — могут быть мишенями для антимироспоридиальной терапии. Обнаруженные у микроспоридий АТФ-переносчики также могут оказаться эффективными мишенями для воздействия на патогенов. В автореферате приводится целый ряд практических рекомендаций, в том числе по использованию препаратов спор паразитов для микробиологической защиты растений и по выбору антигенов для создания высокочувствительных систем иммунодиагностики микроспоридиозов насекомых.

Автореферат дает хорошее представление об объеме проделанной работы и о полученных результатах и, судя по всему, полностью отражает основные положения диссертации. В целом он оставляет сугубо положительное впечатление о диссертационной работе. Это детальнейшее исследование, написанное отличным специалистом, который четко понимает суть проблемы. Актуальность, полнота и высокое качество выполнения работы несомненны.

По теме диссертации опубликовано 26 статей в отечественных и международных реферируемых научных журналах и 4 главы в коллективных монографиях (три из которых изданы в США). Участие в написании коллективных монографий, подготовленных большими международными коллективами авторов, показывает, что В.В. Долгих — признанный международным научным сообществом эксперт в области изучения биохимии и физиологии микроспоридий.

При ознакомлении с авторефератом возник вопрос к соискателю о возможных альтернативных механизмах быстрого создания осмотического давления для выстреливания полярных трубок микроспоридий, поскольку в работе показано, что “в спорах *Paranosema grylli* процесс экструзии полярных трубок не сопровождается изменением содержания трегалозы и образованием свободной глюкозы” (стр. 19 автореферата).

Для сравнительного анализа содержания метаболических ферментов и белков “домашнего хозяйства” в стадиях внутриклеточного развития и спорах

микроспоридии *Paranosema locustae* соискатель использовал иммуноблоттинг с поликлональными антителами, полученными к рекомбинантным продуктам гетерологичной экспрессии генов микроспоридии в бактериях *E. coli*. Интересно было бы узнать, пробовал ли соискатель сравнивать уровень транскриптов соответствующих ферментов и белков в спорах и стадиях внутриклеточного развития паразита.

Считаем, что диссертационная работа В.В. Долгих “Биохимические и структурно-функциональные адаптации энтомопатогенных микроспоридий рода *Paranosema* к внутриклеточному паразитизму” является оригинальным научно-квалификационным исследованием и соответствует всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24 сентября 2013 г №842, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени доктора наук; ее автор, Вячеслав Васильевич Долгих, безусловно заслуживает присуждения ему искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.11 – паразитология.

Юдин Александр Львович
доктор биологических наук, профессор
специальность: 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология
Электронная почта: alyudin@mail.ru

Насонова Елена Станиславовна
кандидат биологических наук
специальность: 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология
Электронная почта: nosema@mail.ru

Место работы:

Лаборатория цитологии одноклеточных организмов,
ФГБУН Институт цитологии РАН,
194064 Санкт-Петербург,
Тихорецкий пр., д. 4
Телефон: +7 812 297 18 36
Факс: +7 812 297 35 41

