

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора Гришановой Алевтины Юрьевны на диссертацию Овчинникова Владимира Юрьевича «микроРНК трематод семейства *Opisthorchiidae*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Диссертационная работа Овчинникова Владимира Юрьевича, посвященная идентификации и функциональной аннотации микроРНК трех представителей паразитических плоских червей семейства *Opisthorchiidae*, является **актуальной** для науки и медицинской практики. Во-первых, печёночные сосальщики *Opisthorchis felineus*, *O. viverrini* и *Clonorchis sinensis* распространены в Евразии и являются угрозой здоровью населения в эндемичных районах и, во-вторых, до сих пор отсутствуют вакцины или какие-либо другие средства профилактики инвазии печёночных сосальщиков, а имеющиеся средства лечения инвазии несовершенны. Во многом это обусловлено тем, что многие вопросы, связанные с молекулярной биологией паразитических червей, практически не исследованы. Поскольку микроРНК являются важными регуляторами экспрессии множества белок кодирующих генов, они могут играть важную роль в регуляции смены стадий в сложном жизненном цикле и во взаимодействии паразит-хозяин. К началу исследований, начатых Овчинниковым В.Ю., в мировой литературе были описаны микроРНК паразитических плоских червей, но не было данных о микроРНК для представителей семейства *Opisthorchiidae*, за исключением *C. sinensis*.

Основными научными результатами, полученными при комплексном анализе микроРНК описторхид, являются идентификация 56 микроРНК трёх трематод, предсказание мишеней для этих микроРНК, определение стадия-специфических микроРНК *O. felineus*, а также установление факта утраты трематодами микроРНК из 4 консервативных семейств в сравнении со свободноживущими и эктопаразитическими плоскими червями. Все представленные в работе основные результаты обладают **научной новизной**.

Теоретическая и практическая значимость проведенного исследования не вызывает сомнений, так как микроРНК двух трематод (*O. felineus* и *O. viverrini*) описаны впервые и результаты секвенирования фракции малых РНК трех описторхид депонированы в базе данных NCBI (PRJNA270708). В целом

результаты работы могут служить базой для дальнейших исследований молекулярной биологии паразитических червей, а именно, молекулярных механизмов жизнедеятельности описторхид, взаимодействий паразита и хозяина и патогенеза трематодозов, а также могут быть использованы для разработок систем диагностики заболеваний, вызываемых паразитическими плоскими червями.

Содержание диссертации Овчинникова В.Ю., изложенной на 222 страницах машинописного текста, традиционно и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, выводов и списка использованной литературы (232 источника), а также 16 приложений. Работа включает 6 таблиц, 30 рисунков.

Во введении обоснована актуальность проблемы и сформулированы цель настоящего исследования и конкретные задачи, показана научная новизна работы, ее теоретическая и практическая значимость и представлены положения, выносимые на защиту,

В обзоре литературы прежде всего представлены современные данные, характеризующие описторхид, включая их положение в систематике, строение париты, жизненный цикл, приведены данные об эпидемиологии *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*. Здесь же представлены сведения об ассоциации описторхоза и заболеваний гепатобилиарной системы человека. Вторая часть обзора посвящена характеристике микроРНК и генов микроРНК. Подробно рассматриваются общие вопросы организации генов микроРНК, эволюции и биогенеза микроРНК, механизмов регуляции экспрессии белок-кодирующих генов с участием микроРНК, роли микроРНК в различных биологических процессах. В обзоре описаны также методы выявления микроРНК, генов микроРНК и методы поиска мРНК-мишеней для микроРНК. Завершает эту главу обзор современных данных о микроРНК плоских червей. На основании приведенных в обзоре сведений сделано заключение о необходимости изучения микроРНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*.

В главе «Материалы и методы» описаны многочисленные биоинформатические подходы к решению задач, связанных с предсказанием микроРНК, анализом расположения микроРНК генов в геноме, предсказанием

белок-кодирующих генов, филогенетическим анализом микроРНК плоских червей, предсказанием мРНК-мишеней, анализом экспрессии микроРНК. Кроме этого глава содержит описание большого перечня разнообразных молекулярно-биологических методов исследований, включающих секвенирование, ПЦР и цифровую капельную ПЦР, выполненных на высококласной приборной базе.

В главе «Результаты» представлены результаты компьютерного предсказания микроРНК описторхид, описаны особенности организации микроРНК-генов, приведены данные сравнительного анализа репертуара микроРНК плоских червей, представлены результаты компьютерное предсказание мрнк-мишеней для микроРНК, и в завершение проанализированы результаты исследования экспрессии микроРНК. На основании полученных результатов формируются выводы и закключение в соответствующих главах.

Все результаты прекрасно проиллюстрированы и профессионально проанализированы автором в главе «Обсуждение» с учетом данных последних лет, содержащихся в обзоре литературы, что полностью убеждает в достоверности полученных новых знаний.

Выводы и научные положения, сформулированные в диссертации, являются достаточно обоснованными, адекватны результатам исследования и хорошо аргументированы. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации. Представленные в диссертации материалы опубликованы в научной периодической печати (3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и 5 иных печатных работ) и докладывались на отечественных и международных научных форумах.

В целом диссертационная работа Овчинникова В.Ю. соответствует высоким стандартам представления результатов исследовательских работ. Принципиальных замечаний к диссертации нет. Хотелось только уточнить источник получения плоских червей и вклад автора в их разведение. И есть небольшие замечания по поводу оформления текста. Так, в Оглавлении было бы полезно привести название каждого из 16 «Приложений» вместо номеров. В тексте на стр. 78 при описании кластеров miR71 дана неправильная ссылка на Рисунок 17 вместо 18. На рисунке

30, где на диаграмме изображено среднее значение ($\pm$ стандартное отклонение) и звездочкой показано различие, не указан уровень достоверности различия.

Высказанные замечания не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение.

Диссертация Овчинникова Владимира Юрьевича представляет собой законченную оригинальную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для современной генетики – проведена идентификация и функциональная аннотация микроРНК возбудителей заболеваний гепатобилиарной системы человека трематод *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. Sinensi*. Это важно для понимания молекулярных аспектов жизнедеятельности описторхид, патогенеза трематодозов и заболеваний, ассоциированных с этими паразитами.

По актуальности темы, полноте поставленных и решенных задач, совокупности новых научных результатов и научно-практической значимости, полноте изложения материала в рецензируемых печатных научных изданиях диссертационная работа Овчинникова Владимира Юрьевича отвечает требованиям ВАК России, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.02.07 – генетика».

Зав. лабораторией биохимии чужеродных соединений

ФГБНУ НИИ молекулярной биологии и биофизики,

доктор биологических наук, профессор

Гришанова А.Ю.

19 октября 2017 г.



Личную подпись Гришанова А.Ю. заверяю
Руководитель отдела кадров НИИМББ
Октябрь 2017 подпись