

ВІДЗІВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу

РИК Тетяни Миколаївни

«ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ

СВИНЕЙ РІЗНИХ ПОРІД»,

представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії
за спеціальністю 091 – Біологія, галузь знань 09 - Біологія.

Анотація. Написана стисло, чітко, відповідно до вимог.

Зауваження і побажання:

1. Констатується, що дослідження здійснені на вибірках свиней порід, які розводяться у господарствах України: миргородська, велика біла, полтавська м'ясна, українська м'ясна, українська степова ряба, ландрас, п'єтрен, в'єтнамська вислобрюха, в'єтнамський мейшан та дика свиня. Дика свиня не розводиться в господарствах України, в т.ч. й ДП ДГ НААН.

Актуальність теми. Біомедицина як один із напрямків використання сучасних технологій, за різними оцінками, призведе до найбільш радикальних проривних досягнень у цій галузі інновацій. Як очікується, у ХХІ столітті досягнення нано- і біотехнологій створять нові методи в терапії і потенційні передумови до збільшення фізичних можливостей людини. Незважаючи на значні успіхи в галузі трансплантації тканин і органів, подальший її розвиток стримується невирішеними проблемами, що мають такі аспекти як: біомедичний, економічний і соціальний (соціопсихологічний, етичний і правовий). Біомедичний аспект визначається наявністю антигенних (генетичних) відмінностей тканини донора і реципієнта, ступенем досконалості технології трансплантацій тощо.

Ксенотрансплантація може стати ключем до вирішення проблеми нестачі органів. Тварини це потенційне джерело для їх отримання, але якщо вдасться подолати існуючі на даний момент основні перешкоди: генетична несумісність між людиною та твариною, наявність у геномі тварин низки ендемічних ретровірусів, морфологічна та функціональна несумісність. Останню проблему можна вирішити обравши донором свиню, адже її органи найбільш близькі за розміром, структурою та функцією до людських. Використання тварин дозволяє уникнути цілого ряду труднощів, а саме: етичні проблеми, недостатній контроль над донорами, визначення оптимального терміну для виділення клітин, оцінка якості донорської тканини тощо.

Такі дослідження мають теоретичне і практичне значення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота Т.М.Рик виконана відповідно до науково-дослідної тематики лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН за завданнями «Теоретичні та методологічні основи тривалого збереження на клітинному рівні генетичних ресурсів автохтонних порід сільськогосподарських тварин» (номер держреєстрації 0116U000516), «Дослідження генетичних популяцій аборигенних, локальних і зникаючих порід сільськогосподарських тварин України для визначення молекулярно-генетичних маркерів продуктивності та адаптації» (номер держреєстрації 0116U000524).

Зауваження і побажання:

1. Автору бажано було б відмітити що дані завдання були складовою програми наукових досліджень (ПНД) НААН №37 «Система роботи в популяціях і збереження біологічного різноманіття генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин» (*«Збереження генофонду порід»*).

Мета і завдання дослідження. Метою досліджень дисертанта було визначення імуногенетичних і молекулярних особливостей свиней різних порід для потенційної придатності їх використання у біомедичних дослідженнях.

Для досягнення мети було поставлено 5 завдань. Завданнями передбачалось:

- дослідити генотипову структуру окремих мікропопуляцій свиней вітчизняної і зарубіжної селекції за локусом ріанодинового рецептора RYR1;
- розробити, оптимізувати та відпрацювати методику ідентифікації ендемічних ретровірусів PERV A/C свиней в мультиплексній ПЛП-SSP системі PERV-C – α -Actin (LAPC) для оцінки рівня біологічної безпеки потенційного донорського матеріалу;
- створити тест-систему для визначення типів ендемічних ретровірусів PERV A/C у геномах свиней в технології мультиплекс;
- дослідити розповсюдження ендемічних ретровірусів PERV підтипів C і A у геномах свиней різних порід української і зарубіжної селекції;
- провести імуногенетичне дослідження за еритроцитарними системами антигенів (факторів груп крові) у контексті визначення певних генотипів, подібних до груп крові людини.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, присвячена актуальній проблемі, має наукову новизну. Зокрема:

- вперше розроблено алгоритм системи лабораторного оцінювання придатності свиней окремих порід для потреб біомедицини;
- вперше проведено оптимізацію техніки генотипування свиней у мультиплексній ПЛП-SSR-системі PERV-C- α -Actin (LAPC);
- розроблено діагностичну систему скринінгу ендогенного ретровірусу свиней підтипу C (PERV-C) за допомогою мультиплексної ПЛП-SSP для виявлення особин зі зниженим ризиком біологічної небезпеки при їх застосуванні для біомедичних цілей.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертація має й практичну цінність. Автором розроблено та відпрацьовано методику ідентифікації ендогенного ретровірусу свиней підтипу C, що дає можливість оцінити рівень біологічної безпеки потенційного донорського матеріалу для біомедичного використання. Встановлено, що за маркерами RYR1 та PERV-C свині спеціалізованих м'ясних порід, за виключенням полтавської м'ясної породи, є найпридатнішими для розведення з метою використання у біомедичних цілях та за параметрами імуногенетичного статусу – наявністю генотипів A/- та Ebdgkmp/ bdgkmp, які відповідають системі груп крові АВО людини, відсутністю алеля стресочутливості та PERV-C ретровірусу – свині української м'ясної та миргородської порід можуть слугувати потенційними фундаторами спеціалізованої вітчизняної лабораторної лінії свиней для медичних потреб. Натомість свині породи п'єтрен та будь-якого поєднання з цією породою не придатні для використання у біомедичних цілях через гомозиготність генотипу за геном стресочутливості.

Особистий внесок здобувача. Одержані наукові результати, що виносяться на захист, є особистим досягненням Рик Т.М. Дисертантом спільно з науковим керівником розроблено загальну схему та вибір напрямку досліджень, визначено мету і завдання, освоєно методики досліджень. Із матеріалів наукових експериментів та публікацій дисертант використав за узгодженням із співавторами частину спільно одержаних результатів. Одержані наукові результати, що виносяться на захист, є особистим досягненням здобувача.

Апробація результатів дисертації. Основні положення результатів досліджень було представлено на різних (Чубинське, Львів, Полтава, Херсон, Харків) конференціях.

Публікації. За темою дисертаційного дослідження опубліковано 14 наукових праць, з них 5 статей у фахових виданнях України, 1 – у зарубіжному науковому виданні, 8 – у збірниках матеріалів конференцій.

Структура та обсяг роботи.

Матеріали дисертації викладено на 137 сторінках комп'ютерного тексту. Структура дисертації – відповідно до вимог (дисертація складається з змісту, переліку умовних позначень, символів, вступу, огляду наукової літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, їх аналізу та узагальнення, висновків, практичних пропозицій виробництву, списку використаної наукової літератури і додатків). Робота гарно і достатньо проілюстрована (12 таблиць і 16 рисунків). Список використаних джерел літератури містить 188 найменувань, з яких 75% (141 найменування) - іноземних авторів.

Вступ дисертаційної роботи написаний чітко і лаконічно, відповідно до вимог ДАК Міністерства освіти і науки України. В ньому обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету і завдання досліджень, наведено зв'язок робіт із науковими програмами, планами, темами, висвітлено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, інформовано щодо особистого внеску здобувача, апробації результатів досліджень, публікацій результатів досліджень та структури та обсягу дисертації.

Розділ 1. Огляд літератури. Розділ викладено на 20 сторінках тексту, складається з 5 підрозділів:

Досвід і перспективи використання свині свійської (*Sus scrofa domestica*) у біомедичних експериментах;

Стрес-синдром у свиней як наслідок мутації в ріанодин-рецепторному гені RYR1;

Ендогенні ретровіруси у свиней;

Імунологічні бар'єри у використанні свиней для біомедичних цілей;

Імунологічні маркери у комплексі гістосумісності
та висновків до розділу 1.

В огляді літератури достатньо повно наведено аналіз стану вивчення питань стосовно наукових досліджень. Огляд літератури інформативний і аналітичний, що дало можливість Т.М.Рик повністю сформулювати мету та поставлені завдання наукових досліджень.

Зауваження і побажання:

1. Бажано б було більш уваги приділити проблемі гістосумісності тканин людини і свині, бо щорічно в Україні, як і в усьому світі, трансплантацію органів гостро потребують сотні тисяч пацієнтів. Однак, ця потреба не може і ніколи не зможе бути задоволена тільки за рахунок людських донорських органів.

2. Також бажано було б навести інформацію про сучасні біотехнологічні фірми, їх методичні підходи щодо вирощування свиней для біомедичних цілей, в т.ч. й ксенотрансплантацій, наприклад Revivacor або eGenesis.
3. Посилання джерел літератури №92 і №94 (стор.121), хоч і викладені українською і англійською мовами.

Розділ 2. Матеріали та методи досліджень. Розділ викладено на 16 сторінках тексту, містить 2 таблиці і 2 рисунки. Даний розділ дуже ретельно і детально описано, зокрема, у цьому розділі наведено загальну схему проведення досліджень. Детально описано характеристику біооб'єктів досліджень, проведення імуногенетичного аналізу і молекулярних досліджень. Все це свідчить, що дисертант володіє методами досліджень, які підібрані таким чином, щоб повністю досягнути поставленої мети роботи.

Зауваження і побажання:

1. Автор детально наводить характеристику порід свиней, що досліджували. Ця інформація більш гармонійно, на мій погляд, виглядала б у попередньому розділі «Огляд літератури».
2. На жаль автор майже не наводить фірму виробника реактивів, що застосовували при проведенні експериментальних досліджень.
3. ДНК-ампліфікатор «Терцик-2» не є таким унікальним обладнанням для проведення досліджень (рис.2.2., стор.56) що його варто наводити окремим рисунком.
4. Не зовсім зрозуміло чому імуногенетичні дослідження проведені усього на 2-х породах (українська м'ясна і миргородська) і чому саме на цих породах.
5. Констатується, що дослідження проводили у лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця Національної академії аграрних наук України та лабораторії генетики Інституту свинарства і агропромислового виробництва Національної академії аграрних наук України. Мабуть доречно було б додати і лабораторію генетики Інституту тваринництва Національної академії аграрних наук України, в якій проводили імуногенетичні дослідження.
6. Вираз за кімнатної температури не зовсім коректний. Кімнатна температура може бути і +15 і +25 і інша, за різної

температури буде різна тривалість підсушування, щ потребує додаткового контролю.

7. Мікрооб'ємний спектрофотометр NanoDrop-219 мабуьт н Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, і фірми Niscomed, а вимірювання основних параметрів нуклеїнових кислот проводили в вищенаведеному науковому закладі НАН України.

Розділ 3. Результати власних досліджень викладено на 34 сторінка тексту, включають 10 таблиць і 14 рисунків, містять 4 підрозділи:

- генотипова структура свиней вітчизняних порід за локусом ріанодинового рецептора RYR1;
- ідентифікація едогенних ретровірусів свиней PERV-C та PERV-A;
- розповсюдження ендogenous ретровірусів PERV A / C у геномах свиней різних порід;
- імуногенетична структура свиней різних порід.

Підрозділи відповідають схемі досліджень і завданням дисертаційної роботи та поділяються на окремі частини, які об'єднуються за викладеним матеріалом. Наведено висновки за кожним підрозділом.

Зауваження і побажання:

1. На стор.83 наведена табл.3.5 і на стор.84 помилково наведена табл.3.5 (її нумерація повинна становити 3.6). Тому і подальша нумерація таблиць 3.6. – 3.9. повинна бути 3.7 – 3.10.
2. Нуклеїнова кислота та одиниці виміру повинні подаватись однаково і українською мовою, а то, наприклад, в табл.3.3 (стор.73) ДНК надається як DNA, а нг/мл як ng/μl.

Розділ 4. Аналіз і обговорення отриманих результатів досліджень викладено на 10 сторінках тексту, включає 1 рисунок. Матеріали викладені у цьому розділі відповідають його назві, меті і основним завданням дисертаційної роботи, є узагальненням наукової роботи на підставі кваліфікованого аналізу отриманих результатів досліджень.

Зауваження і побажання:

1. Назва табл.4.1. (стор.106) не зовсім коректна (Номери тварин української м'ясної породи, придатних для використання у ксенотрансплантації за даними генетичного аналізу). Слово номери тут явно зайве. Важлива генетична характеристика тварин, а не номери.

Висновки відповідають поставленим завданням і витікають із матеріалів досліджень.

Зауваження і побажання:

1. Не зовсім зрозуміло у чому полягає лабораторна оптимізація методики виділення ДНК (висновок 3, стор.108).

Пропозиції виробництву носять логічний характер.

Загальний висновок.

Таким чином, ознайомлення з матеріалами дисертації Т.М.Рик дає підстави для висновків про виконання дисертанткою вагомої, оригінальної і методично складної роботи, яка дозволила отримати обґрунтовані результати. Зауваження і побажання ні в якій мірі не принижують цінність проведених дисертанткою експериментальних досліджень.

Аналіз дисертаційної роботи Рик Т.М. свідчить, що вона є самостійним, завершеним науковим дослідженням, обрана тема є актуальною, основні наукові положення, що виносяться на захист та висновки обґрунтовано, результати отримано в методично правильно спланованих дослідах, вони мають важливе теоретичне і прикладне значення.

На підставі вищенаведеного вважаю, що дисертаційна робота «Особливості генетичної структури свиней різних порід», відповідає чинним в Україні вимогам до дисертацій доктора філософії, а її автор РИК Тетяна Миколаївна, безумовно, заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія, галузь знань 09 – Біологія.

Офіційний опонент:

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник,
провідний науковий співробітник Інституту тваринництва
степових районів імені М.Ф.Іванова «Асканія Нова» –
Національного наукового селекційно-генетичного
центру з вівчарства


Олег ГУЗЕВАТИЙ

Підпис О.Є.Гузеватого засвідчую:

Учений секретар Інституту тваринництва
степових районів імені М.Ф.Іванова «Асканія Нова» –
Національного наукового селекційно-генетичного
центру з вівчарства, кандидат сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник



Юрій МІЛЬЧЕНКО