

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.037.01,**  
созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук,  
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 02 марта 2022 г. № 5

О присуждении **Спеченковой Надежде Андреевне** ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Идентификация белков, придающих устойчивость растениям картофеля к комбинированным (биотическим и абиотическим) стрессам, методом протеомного анализа» по специальности 1.5.6 – Биотехнология принята к защите 22 декабря 2021 г. (протокол заседания № 17) Диссертационным советом 24.1.037.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10), действующим на основании Приказов Минобрнауки России №75/нк от 15.02.2013 г. и № 561 от 03.06.2021 г.

Соискатель Спеченкова Надежда Андреевна, 7 ноября 1990 года рождения. В 2017 году соискатель окончила магистратуру Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева (РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева) в г. Москве по программе Биотехнология (генетика, биотехнология и селекция) направления Агрономия, а в 2021 году окончила аспирантуру в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН). В настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории функциональной геномики и протеомики растений ИБХ РАН. Диссертация выполнена в лаборатории функциональной геномики и протеомики растений ИБХ РАН.

**Научный руководитель** – доктор биологических наук, профессор Тальянский Михаил Эммануилович, заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:**

Доктор биологических наук, профессор **Морозов Сергей Юрьевич**, заведующий лабораторией генной инженерии вирусов отдела биохимии вирусов растений Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского (НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского) Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова);

Доктор биологических наук, доцент **Лазарев Василий Николаевич**, заместитель генерального директора по научной работе, заведующий лабораторией геномной инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства» (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России)

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), г. Москва, в своём *положительном* отзыве, подписанном зав. лабораторией маркерной и геномной селекции растений, зам. директора по научной и образовательной работе, д.б.н. Соловьевым Александром Александровичем и с.н.с. лаборатории маркерной и геномной селекции растений, к.б.н. Кировым Ильей Владимировичем, и утвержденном директором, академиком РАН, проф., д.б.н. Карловым Геннадием Ильичем, указала, что диссертация Спеченковой Надежды Андреевны является законченной научно-квалификационной работой, которая по актуальности темы, научному уровню, теоретической и практической значимости результатов отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Соискатель имеет 6 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 3 работы общим объемом 5 печ.л. в рецензируемых научных изданиях из списка, рекомендованного Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций (входят в базы данных Web of Science и Scopus). В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы по теме, в которые Н.А. Спеченкова внесла основной либо существенный вклад:

**Spechenkova N., Fesenko I. A., Mamaeva A., Suprunova T. P., Kalinina N. O., Love A. J., & Taliansky M. (2021). The Resistance Responses of Potato Plants to Potato Virus Y Are Associated with an Increased Cellular Methionine Content and an Altered SAM: SAH Methylation Index. Viruses, 13(6), 955. DOI: 10.3390/v13060955.**

Fesenko I., **Spechenkova** N., Mamaeva A., Makhotenko A., Love A., Kalinina N. & Taliansky M. (2020). Role of the methionine cycle in the temperature-sensitive responses of potato plants to potato virus Y. *Molecular Plant Pathology*, 22, 77–91. DOI: 10.1111/mpp.13009.

Makarova S., Makhotenko A., **Spechenkova** N., Love A., Kalinina N. & Taliansky M. (2018). Interactive Responses of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Plants to Heat Stress and Infection with Potato Virus Y. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2582. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02582.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Отзыв официального оппонента д.б.н., профессора **Морозова Сергея Юрьевича**. Отзыв положительный, содержит следующее замечание: «К незначительным замечаниям по тексту диссертации можно отнести довольно редкие опечатки и синтаксические погрешности, а также неоправданное использование англицизмов, например, моск-инокулированные вместо буфер-инокулированные (см., например, подпись к рис. 14)».

Отзыв официального оппонента д.б.н., доцента **Лазарева Василия Николаевича**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1. В оглавлении отсутствует п. 1.1.4. Зависимость вирусной инфекции от температуры, который имеется в обзоре литературы.

2. Стр. 20. Поскольку в разделе 1.2 обзора литературы речь идет только о изучении механизмов устойчивости растений к вирусам, то его следовало бы назвать «Протеомное профилирование как способ изучения механизмов устойчивости растений к вирусным инфекциям».

3. Стр.29. Возможно, следовало бы завершить обзор литературы суммированием изложенного материала и продемонстрировать его связь с целью диссертационной работы.

4. Стр. 31. Таблицу 1 можно было бы заменить одним предложением.

5. Стр. 37. Осталась непонятна формулировка «Поскольку количественный протеомный анализ с использованием меток iTRAQ снижает величину реального изменения представленности белков между двумя образцами...».

6. На протяжении всего текста диссертационной работы используется выражение «дифференциально экспрессирующиеся белки». Замечу, что экспрессироваться могут лишь гены. Белки синтезируются, продуцируются. Кроме того, выражения «снижающиеся и растущие белки», также используемые автором, на мой взгляд, не совсем корректны и являются, скорее, лабораторным сленгом.

Отзыв **ведущей организации**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1. В обзоре литературы не выделена информация по реакции растений картофеля на высокотемпературный стресс.

2. При описании материалов, методов и условий проведения исследований автор не сделала акцента на более подробной характеристике устойчивости/неустойчивости взятых для исследования сортов картофеля. Не до конца является убедительным выбор значения повышенных температур, хотелось бы получить обоснование, почему выбрана температура именно 28°C.

3. По нашему мнению, представление результатов на изучаемых сортах было бы более читаемым, если бы на одном рисунке были бы представлены, а также и обсуждены результаты, полученные на контрастных сортах в разных изучаемых условиях стрессов.

4. На наш взгляд, тема работы (идентификация белков) и цель (изучение молекулярных механизмов) не совсем совпадают.

5. Представленные на рисунке 1А результаты не позволяют судить об очевидных различиях между контрольными и заражёнными образцами. Наблюдаемые изменения вызваны повышением температуры, инфекцией или комбинированным стрессом? Контроль везде стоит без заражения и + 22°C, поэтому отделить эффект повышения температуры от заражения затруднительно.

Отзыв на автореферат к.б.н., доцента кафедры биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева) **Поливановой Оксаны Борисовны**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: «Так, для сравнительного анализа автором были выбраны 2 сорта картофеля с различной степенью устойчивости – Чикаго и Гала. Для большего понимания вовлеченности выявленных белков в реакции на комбинированный стресс, было бы интересно получить сравнительные данные на других высокоустойчивых к Y вирусу сортах, а также на сортах, обладающих средней устойчивостью. Также из работы не очевидно, чем обусловлен выбор температуры имитации теплового стресса (28°C). Согласно доступным данным, эксперименты по умеренному температурному воздействию на растения картофеля проводят при температуре 30-32°C».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области биотехнологии, вирусологии и протеомики, которые подтверждены сериями их публикаций в ведущих российских и международных журналах. В ведущей организации – ФГБНУ ВНИИСБ – ведутся исследования в области сельскохозяйственной биотехнологии, а также проводятся работы по разработке методов клеточной и геномной инженерии для создания новых перспективных форм основных сельскохозяйственных растений. Официальный оппонент Морозов Сергей Юрьевич является ведущим специалистом в области вирусологии растений, занимается функциональным и структурным анализом белков вирусов растений и белков растений,

участвующих в различных этапах вирусной инфекции. Официальный оппонент Лазарев Василий Николаевич является специалистом в области «омиксных» (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика) технологий. Высокая квалификация, большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований была выявлена важная роль ферментов метионинового цикла (МЦ) и свободного метионина в формировании устойчивости растений картофеля к инфекции, вызванной Y вирусом картофеля. Для этого диссертантом был впервые проведен сравнительный количественный анализ протеома контрастных по отношению к стрессам сортов картофеля (Гала и Чикаго) в условиях индивидуальных и комбинированного стрессов, в результате которого были выявлены группы дифференциально продуцируемых белков. Особое внимание было уделено группе белков, связанных с МЦ, для которых было обнаружено разнонаправленное изменение представленности в зависимости от сорта. Дальнейшие исследования позволили подтвердить участие ферментов МЦ в формировании противовирусного ответа, зависящего от температуры. Диссертантом был проведён дополнительный опыт по обработке заражённых вирусом растений метионином – основным участником МЦ, в результате чего было продемонстрировано восстановление содержания других метаболитов МЦ и повышение устойчивости к вирусной инфекции в условиях теплового стресса. На основании полученных данных предполагается связь между обусловленной температурой восприимчивостью растений к вирусной инфекции и функционированием МЦ: устойчивость растений картофеля к заражению Y вирусом картофеля может регулироваться уровнем внутриклеточных метаболитов МЦ, определяющих эффективность процессов метилирования.

**Теоретическая значимость** исследования обоснована тем, что в процессе изучения взаимодействия вирус – растение-хозяин в условиях абиотического стресса автору удалось обнаружить связь между основными компонентами метионинового цикла и устойчивостью растений к комбинированному стрессу. Результаты, полученные в диссертационной работе, свидетельствуют о том, что устойчивость сортов картофеля к инфекции Y вирусом картофеля может регулироваться уровнем метаболитов МЦ, определяющих скорость процессов метилирования. Это расширяет представления о механизмах взаимодействия вирусов и растений, что может способствовать разработке эффективных селекционных программ и биотехнологических подходов, которые позволят избежать негативных последствий комбинированных стрессов.

**Значение** полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что работа проводилась на картофеле – одной из важнейших сельскохозяйственных культур, с использованием наиболее актуальных стрессовых факторов, таких как Y вирус картофеля и тепловой стресс, а полученные результаты способствуют разработке новых подходов увеличения устойчивости культур. Выявленные гены ферментов МЦ могут рассматриваться как перспективные мишени при выведении устойчивых к биотическим и абиотическим стрессам сортов различных культур с использованием методов классической селекции, а также с применением современных технологий геномного редактирования.

Достоверность результатов исследования сомнений не вызывает: исследования проводились с использованием современных научных методов, экспериментальные данные были получены с использованием сертифицированного оборудования, воспроизводимость результатов неоднократно продемонстрирована, при анализе данных были использованы современные методы сбора и обработки информации.

Личный вклад Н.А. Спеченковой в представленную диссертационную работу заключался в проведении сравнительного количественного протеомного анализа с использованием меточной протеомики (iTRAQ метки) устойчивого (Гала) и восприимчивого (Чикаго) сортов картофеля в условиях индивидуального (вирусная инфекция) и комбинированного стресса (вирусная инфекция на фоне теплового стресса). Масс-спектрометрический анализ LC-MS/MS и идентификация белков были проведены в сотрудничестве с н.с. А.С. Мамаевой и с.н.с. И.А. Фесенко из лаборатории функциональной геномики и протеомики растений ИБХ РАН. Также Спеченковой Н.А. была проанализирована динамика экспрессии генов ферментов, участвующих в метиониновом цикле (МЦ), и проведена оценка накопления некоторых метаболитов МЦ. Обработка и интерпретация полученных данных, а также подготовка материалов научных публикаций также проводилась с активным участием Н.А. Спеченковой.

В ходе защиты диссертации был задан уточняющий вопрос по протеомному анализу: отличались ли между собой протеомы двух контрастных сортов до заражения вирусом и до воздействия теплового стресса. Соискатель Спеченкова Н.А. дала обоснованный ответ на заданный вопрос: протеомы растений до заражения проанализированы не были, но дополнительно было проведено сравнение сортов по контрольным образцам, разница составила более 100 белков.

Исходя из вышеизложенного, диссертационный совет заключает, что диссертация Спеченковой Н.А. является законченной научно-квалификационной работой, результаты которой вносят вклад в развитие биотехнологических подходов для повышения устойчивости сельскохозяйственных культур, что является важным для развития исследований в области биотехнологии. Работа написана автором самостоятельно и

содержит новые и актуальные научные результаты. Таким образом диссертационная работа Спеченковой Надежды Андреевны «Идентификация белков, придающих устойчивость растениям картофеля к комбинированным (биотическим и абиотическим) стрессам, методом протеомного анализа», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденном Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; № 29.05.2017 г. № 650, , 20.03.2021 г. № 426).

На заседании 02 марта 2022 г. диссертационный совет постановил: за решение научной задачи по идентификации белков, придающих устойчивость растениям картофеля к стрессовым факторам, а также по изучению молекулярных механизмов устойчивости растений, имеющей важное значение для теоретических и практических исследований в области биотехнологии присудить Спеченковой Надежде Андреевне ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 7 докторов наук (по специальности рассматриваемой диссертации 1.5.6 - Биотехнология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель  
диссертационного совета  
академик РАН, д.х.н.

Иванов Вадим Тихонович

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
д.ф.-м.н.



Олейников Владимир Александрович

3 марта 2022 г.