

## **СТЕНОГРАММА**

Заседания Диссертационного совета 24.1.037.01  
на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук

От 02 марта 2022 года

Защита диссертации  
На соискание ученой степени кандидата химических наук

**Спеченковой Надежды Андреевны**

**По теме: «Идентификация белков, придающих устойчивость растениям  
картофеля к комбинированным (биотическим и абиотическим)  
стрессам, методом протеомного анализа»**

Специальность: 1.5.6 – Биотехнология

Москва, 2022

## Стенограмма

заседания диссертационного совета 24.1.037.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 02 марта 2022 года.

Председатель  
диссертационного совета академик РАН, д.х.н. Иванов Вадим Тихонович

Ученый секретарь  
диссертационного совета д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 7.

1.	Академик РАН, д.х.н.	Иванов Вадим Тихонович	(1.4.9)
2.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(1.5.6)
3.	Д.б.н.	Ажикина Татьяна Леодоровна	(1.5.3)
4.	Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(1.5.6)
5.	Д.х.н.	Белогуров Алексей Анатольевич	(1.5.3)
6.	Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(1.5.6)
7.	Академик РАН, д.х.н.	Габибов Александр Габибович	(1.5.6)
8.	Академик РАН, д.б.н.	Деев Сергей Михайлович	(1.5.3)
9.	Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(1.5.3)
10.	Член-корр. РАН, д.б.н.	Завриев Сергей Кириакович	(1.5.6)
11.	Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(1.5.3)
12.	Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(1.5.3)
13.	Академик РАН, д.х.н.	Мирошников Анатолий Иванович	(1.5.6)
14.	Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(1.4.9)
15.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(1.5.3)
16.	Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(1.4.9)
17.	Член-корр. РАН, д.б.н.	Тоневицкий Александр Григорьевич	(1.5.6)
18.	Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(1.4.9)
19.	Член-корр. РАН, д.х.н.	Цетлин Виктор Ионович	(1.4.9)
20.	Д.х.н.	Шапаронов Михаил Иванович	(1.4.9)
21.	Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(1.4.9)

**Иванов Вадим Тихонович:** Итак, переходим к следующему разделу нашей повестки дня. Защита кандидатской диссертации Надежды Андреевны Спеченковой. Владимир Александрович?

**Олейников Владимир Александрович:** *(зачитывает материалы из аттестационного дела Спеченковой Надежды Андреевны).* Да, Спеченкова Надежда Андреевна, Российская Федерация. Окончила магистратуру Российского Государственного Аграрного Университета имени Тимирязева в семнадцатом году, по программе Биотехнология, это значит: «Генетика, биотехнология и селекция», направления «Агрономия». С семнадцатого года по настоящее время младший научный сотрудник лаборатории молекулярных основ стрессоустойчивости растений, с двадцатого года по настоящее время младший научный сотрудник лаборатории функциональной геномики и протеомики растений нашего института. Окончила аспирантуру ИБХ в двадцать первом году, кандидатский экзамен по специальности «Биотехнология» – «хорошо» оценка. Работа выполнена в лаборатории функциональной геномики и протеомики растений нашего института и научный руководитель диссертационной работы – доктор биологических наук, профессор Михаил Эммануилович Тальянский, руководитель лаборатории функциональной геномики и протеомики растений. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах. Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя, а именно – 27 декабря 21 года и все необходимые документы в деле имеются.

**Иванов Вадим Тихонович:** Замечания? Дополнения? Уточнения? Не вижу. Тогда слова диссертанту, Надежда Андреевна, 20 минут в вашем распоряжении.

**Спеченкова Надежда Андреевна:** *(излагает основные положения диссертационной работы).*

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо за доклад. Переходим к обсуждению. Возникли ли вопросы у присутствующих? Да, прошу.

**Бовин Николай Владимирович:** Давайте вернёмся к самому началу. Я не уловил может быть, у вас было, но как-то я не уловил. Если сравнивать исходные вот эти сорта картофеля, Чикаго и Гала, до заражения вирусом и без теплового шока, теплового стресса; их протеомы как-то отличаются, или вообще не отличаются, или, скажем там, несколько белков, единичных или это очень широкий круг белков?

**Спеченкова Надежда Андреевна:** До заражения сравнения не было, но мы сравнивали между собой контроли, которые были без заражения и без температуры, сорта Гала и Чикаго, и там было порядка 100 или 200 отличающихся белков, но не сильно отличающихся. Например у сорта Гала было повышено количество PR белков, то есть связанных с патогенезом, но это опять же, относительно сорта Чикаго. То есть, если сравнивать именно заражённые растения, то их мы не сравнивали, только контрольные, не заражённые.

**Бовин Николай Владимирович:** Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Есть ли ещё вопросы? Таковых не видно. Спасибо, можете пока немножко отдохнуть.

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Переходим к заслушиванию отзывов. Отзыв институтский, отзыв ведущей организации...

**Олейников Владимир Александрович:** Научного руководителя давайте сначала.

**Иванов Вадим Тихонович:** А, да, действительно, есть такой момент. Научный руководитель как раз именно сейчас имеет возможность охарактеризовать диссертанта.

**Олейников Владимир Александрович:** Ну вот Михаил Эммануилович где-то застрял за рубежом, но он хотел подключиться. Есть подключение? Нет, подключения нет.

**Иванов Вадим Тихонович:** Подключения не видно, да?

**Олейников Владимир Александрович:** А, есть, да-да-да... А звук? Он сам подключит. Михаил Эммануилович, мы вас не слышим пока, включите микрофон.

**Иванов Вадим Тихонович:** Просьба звук подключить, да. Включите микрофон.

**Олейников Владимир Александрович:** Мы вас не слышим, Михаил Эммануилович.

**Иванов Вадим Тихонович:** Давайте так, Владимир Александрович, пока идут попытки наладить звук, давайте заслушаем формальные отзывы, институтские.

**Олейников Владимир Александрович:** *(зачитывает заключение организации, где выполнялась диссертация, заключение положительное).* Так, значит, организация, где выполнялась работа – это наш институт. Ну и соответственно заключение нашего института об этой работе: ну существенные биографические некие данные уже зачитаны были, прозвучали. Тема утверждена 6 октября 2021 года, научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Тальянский Михаил Эммануилович, обсуждена была на открытом семинаре отдела молекулярной биотехнологии растений ИБХ РАН, и принято следующее заключение. Актуальность – ну здесь говорится о важности картофеля и о том, что стрессы, различные абиотические и биотические стрессы, значительно снижают его урожайность и качество продукции. То есть вот сразу здесь выявляется практическая значимость, актуальность работы. Говорится, что для разработки эффективных подходов к защите растений «важным» является понимание механизмов формирования устойчивости. Сравнение молекулярных ответов устойчивого и восприимчивого сорта на комбинированный стресс методами протеомики позволяет понять, какие стратегии реализуются, могут быть реализованы в растениях этих генотипов; идентифицировать ключевые гены-мишени, перспективные для практического использования. Настоящая работа посвящена изучению молекулярных механизмов, определяющих ответ растения картофеля на комбинированный стресс. То есть, актуальность, новизна. Личный вклад: это обработка, интерпретация полученных данных, подготовка материалов научных публикаций – она проводилась лично Спеченковой или с участием Спеченковой. Результаты: результаты важны. С помощью сравнительного количественного протеомного анализа на основе меточной протеомики выявлены группы дифференциально экспрессирующихся белков, вовлечённых в различные клеточные процессы. Обнаружена корреляция между повышенной восприимчивостью сорта Чикаго к инфекции на фоне теплового стресса и снижением уровня основных ферментов метионинового цикла. Ну,

тут перечислены ещё результаты. На основании полученных данных предположено, что существует функциональная связь между обусловленной температурой восприимчивостью растений, вирусной инфекцией и функционированием «метионинового цикла» растений. Так.

**Тальянский Михаил Эммануилович:** Извините, меня слышно сейчас?

**Олейников Владимир Александрович:** Вот теперь слышно прекрасно.

**Тальянский Михаил Эммануилович:** Отлично.

**Олейников Владимир Александрович:** Ну давайте я всё-таки дочитаю, вот это, а потом значит вы подключитесь.

**Тальянский Михаил Эммануилович:** Конечно.

**Олейников Владимир Александрович:** *(продолжает зачитывать заключение организации, где выполнялась диссертация)*. В данной работе впервые выявлена важная роль ферментов метионинового цикла, свободного метионина в устойчивости растений картофеля к инфекции. Научная специальность – Биотехнология, 1.5.6. Опубликовано 3 работы по данным результатам. В результате заключения говорится о том, что работа рекомендована к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, ну и принята на семинаре, о котором я говорил, и, соответственно, заключение утверждено директором нашего института – академиком Габировым Александром Габировичем. Ну, я думаю, может быть мы дадим слово сейчас Михаилу Эммануиловичу, пока он подключён?

**Тальянский Михаил Эммануилович:** Пока связь не пропала.

**Олейников Владимир Александрович:** Да, пока связь существует, вот он сейчас выскажется, а потом я пойду уже...

**Иванов Вадим Тихонович:** Ну потом мы ко второму отзыву перейдём, давайте, да.

**Олейников Владимир Александрович:** Да, а потом перейдём опять.

**Тальянский Михаил Эммануилович:** Спасибо. Ну, предыстория этой работы заключалась в том, что мы получили мегагрант для работы по вопросам механизмов, молекулярных механизмов стрессоустойчивости растений и по условиям мегагранта нам нужно было привлекать, естественно, молодых учёных. И вот Надежда была нашим первым молодым исследователем, которого мы пригласили, вот, через аспирантуру ИБХ. Ну, специальность у Нади, как вы слышали, агрономия. В общем, это немножко далеко от того, чем мы занимались, и, конечно, образование было очень хорошее, да, полученное в тимиразевке, но, всё-таки не совсем по тому профилю, который требовался, что было Надеждой успешно компенсировано её большим желанием работать. Вот, и как мне кажется, что за эти 4 года, Надя очень профессионально выросла и, во-первых, мы успешно справились с нашим мегагрантом, ну, конечно, не только с помощью Нади, но и с помощью Нади тоже, вклад был её очень весомым. Вот, и во-вторых, Надя просто сейчас уже готовый специалист, на мой взгляд, и те данные, которые были изложены в диссертации, они составляют только часть, и я даже не знаю, как сказать, большую или меньшую часть её исследований. В последнее время все данные, представленные, были

дополнены транскриптомными исследованиями, которые сильно очень обогатили результаты протеомики и захватили также регуляцию на уровне некодирующих РНК, за счёт альтернативного сплайсинга, за счёт новых белковых групп, которые участвуют в регуляции, таких как белки связанные с парилированием. Кроме того, это было не только очень важно для нашей работы по мегагранту в ИБХ, но я должен сказать, что вообще в России к сожалению, по непонятным причинам, наукам о растениях уделяется значительно меньше внимания, чем казалось бы нужно, поскольку растения – это, вообще говоря, наше всё. Вот, и поэтому вот эта работа также была очень важна в плане популяризации наук о растениях в Российской Федерации. Ну вот наверное всё, о качестве работы я говорить конечно не буду, поскольку об этом будут говорить рецензенты, но, с моей стороны можно сказать только то, что Надежда сформированный научный сотрудник и я думаю, что она будет продолжать «высоко нести знамя растительной науки» в ИБХ и вообще в стране. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо, Михаил Эммануилович, мы обязательно учтём всё то, что мы услышали от вас по поводу диссертанта.

**Тальянский Михаил Эммануилович:** Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Продолжаем наше заслушивание отзывов. Отзыв ведущей организации.

**Олейников Владимир Александрович:** *(зачитывает отзыв ведущей организации, отзыв положительный)*. Да, отзыв ведущей организации, это у нас Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, то есть прямо по специальности работы. Ну и начинается этот документ, этот отзыв очень красиво: Картофель является одной из важнейших сельскохозяйственных культур, являясь по сути «вторым хлебом». Ну и дальше по поводу актуальности опять же то, что вот в заключении организации было, о том как это важно, стрессоустойчивость и так далее. Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые представлены результаты сравнительного количественного анализа протеома контрастных по реакции на стрессы заражения вирусом Y картофеля и действием повышенной температуры растений картофеля сортов Гала и Чикаго, которые показали различия в числе дифференциально экспрессирующихся белков. Достоверность. Анализ показал, что являются обоснованными и достоверными выводы, и обусловлено адекватностью выбранных методических подходов. Значимость. Научно-практическая значимость работы несомненна, так как затрагивает вопросы протеомного анализа контрастных по устойчивости к стрессам жаростойкости и вирусной инфекции сортов картофеля.

Общая характеристика работы: 141 страница, введение, обзор литературы, главы методы, материалы, результаты и обсуждение, заключение и т. д., классическая схема. Обзор литературы: представлен разбор методов протеомного анализа, более подробно рассмотрены ферменты метионинового цикла и их роль в противовирусном ответе. Вторая глава: достаточно представлены материалы и методы, условия проведения испытаний. Третья глава: представлены результаты и их интерпретация. Соискателем получены весьма интересные результаты по динамике накопления вирусной РНК при заражении контрастных по устойчивости к вирусу Y картофеля сортов. Важный результат – это выявление роли ферментов метионинового цикла в формировании ответа растений

картофеля на заражение вирусом Y. Апробация: 6 печатных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, входящих в базы данных Web of Science, Scopus. Рекомендации по использованию результатов перечислены организацией. А вот вопросы к работе и замечания к работе.

К работе возник ряд вопросов и замечаний: Первое. В обзоре литературы не выявлена информация по реакции растений картофеля на высокотемпературный стресс. Второе. 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. Третье. 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, полученных на контрастных сортах в разных изучаемых условиях стрессов. Четвёртое. На наш взгляд, тема работы (идентификация белков) и цель (изучение молекулярных механизмов) не совсем совпадают. Пятое. Представленные на рисунке 1А результаты не позволяют судить об очевидных различиях между контрольными и заражёнными образцами. Можно ли утверждать, что наблюдаемые изменения вызваны однозначно повышением температуры, инфекцией или комбинированным стрессом?

Заключение: Диссертационная работа, соответственно, представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология является законченной научно-квалификационной работой. По актуальности, научному уровню, теоретической и практической значимости результатов диссертация отвечает требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», а сама Спеченкова Надежда Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности «Биотехнология». Отзыв был обсуждён и утверждён на заседании лаборатории маркерной и геномной селекции растений 14 февраля 22 года, протокол №5. Подписано: заведующий лабораторией маркерной и геномной селекции растений, заместитель директора по научной и образовательной работе, доктор биологических наук, профессор, профессор РАН Соловьев Александр Александрович и утверждено, соответственно, директором Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Г.И. Карловым.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. В отзыве были замечания, на которые хотелось бы услышать реакцию диссертанта. Надежда Андреевна, слушаем вас.

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Да, можно я слайды открою. Ну, значит по порядку, да?

**Олейников Владимир Александрович:** И ближе к микрофону.

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Ага. По поводу пропуска информации по реакции растений картофеля в лит. обзоре. Пропуск информации по реакции растений на высокотемпературный стресс. Я согласна, это моё упущение, для меня это самой было удивительным, потому что в моих черновиках были наброски по реакции растений только на температурный стресс, но, к сожалению, в окончательном варианте диссертации эту информацию я упустила. Приму к сведению, спасибо. Значит второе замечание по поводу

того, что я упустила описание сортов в материалах и методах – я согласна, но хочу отметить, что характеристика сортов по устойчивости и восприимчивости была дана в моей работе в разделе «Результаты и их обсуждение», поскольку всё-таки вот эта вот устойчивость или восприимчивость была одним из результатов нашей работы, полученным нами лично. Поэтому мне показалось, что уместнее разместить эту информацию в разделе «Результаты и методы». Но согласна, что в «Методах» тоже можно было дать описание сортов. Ну и по поводу выбора сортов, я хочу ещё раз отметить, что в начале нами было проанализировано 19 сортов и линий, они представлены на слайде, если интересно (*слайд № 23*). Нами были проведены испытания по влиянию вирусной инфекции и повышенной температуры, и фактически все сорта продемонстрировали свою чувствительность по отношению к температурному стрессу, особенно в плане снижения урожайности. У самых чувствительных сортов, эти сорта были, утрачивали свою способность к продуктивности. И вот на основе этих масштабных экспериментов нами были выбраны два контрастных *стресса (сорта)*, которые были дополнительно всесторонне проанализированы с использованием различных подходов и методов, которые также перечислены на слайде. И вот поскольку в этих сортах мы были уверены со всех сторон – их мы и взяли для проведения протеомного анализа. Далее, по поводу выбора температуры – тоже моё упущение, что я не дала более подробную информацию, почему именно такая температура, постараюсь оправдаться здесь. Опять же, напоминаю, что картофель – это культура умеренного климата, её родина — это Южная Америка, а именно Анды, высокогорные, там в целом умеренный климат (*диссертант ссылается на информацию, представленную на слайде № 24*) И вот, по результатам работ, которым уже более 30 лет, было показано, что существует такой оптимальный диапазон, в котором растения..., который называется «кинетическое тепловое окно». И вот этот оптимальный диапазон для картофеля составляет от 15 до 25°C. И поэтому увеличение температуры, является для него уже тепловым стрессом, при котором тормозится как накопление питательных веществ, так и в целом клубнеобразование. Ну и в наших работах растения были подвергнуты этой температуре (28°C) круглосуточно. Вот, собственно почему взяли 28, а не выше например, так как температура выше 30°C приводила уже к таким необратимым изменениям, которые бы искажали молекулярный ответ и просто затрудняли бы даже отбор образцов, так как такни деградировали бы и можно было отказаться от проведения некоторых анализов. По поводу несовпадения темы работы и цели – я старалась в цели отобразить, цель звучит как «Изучение методами протеомики», а что такое протеомика, как не идентификация белков, что, собственно и являлось темой моей работы – идентификация белков. Поэтому хочется отметить что всё-таки, цель и тема были мною проработаны. Значит, по поводу рисунка, я так понимаю 1А – это в автореферате, в диссертации это рисунок 2А, я сожалею, что мои коллеги, которые проверяли мою работу, не увидели там различий, я вот вывожу этот рисунок отдельно на экран (*слайд № 25*), надеюсь, здесь видно. Здесь приведены данные по всем вариантам, также по тепловому стрессу отдельно, отдельно по вирусу и по сочетанию стрессов. И мы можем видеть, что у Чикаго симптомы морщинистости, в то время как у устойчивого сорта Гала симптомы отмечены не были. Кроме того, позвольте вам дать ещё один рисунок (*слайд № 26*), это растения уже на 21 день, который не участвовал в моих опытах, но были проведены тем не менее опыты, которые были опубликованы в 18-ом году. Здесь мы можем посмотреть на растения сорта Чикаго на 21 день инфекции, и на варианте с

комбинированным стрессом мы видим уже вот эти вот самые изменения, про которые я говорила, засыхание кончиков листьев, новообразованных листьев, и в целом «сжатость листы к стеблю растения». Также это можно увидеть вот на этих фотографиях (*слайд № 24*), это вид растений на четвёртой неделе, там мы наблюдали в варианте с повышенной температурой и вирусом опадание листьев, то есть уже сложно было бы отбирать пробы ещё дальше. Да, в общем это все мои ответы на замечания ведущей организации.

**Иванов Вадим Тихонович:** Всё у вас, да?

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Да, спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Ну что же. А были отзывы на автореферат, на диссертацию?

**Олейников Владимир Александрович:** Да, да, да.

**Иванов Вадим Тихонович:** Есть, да? Давайте.

**Олейников Владимир Александрович:** (*зачитывает отзыв на автореферат, отзыв положительный*). Один отзыв поступил на автореферат, отзыв полностью положительный но, значит, всё-таки здесь замечания тоже есть и пишут следующее: Несмотря на высокую положительную оценку работы Спеченковой возникли небольшие вопросы и рекомендации. Так, для сравнительного анализа автором были выбраны два 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. Ну это тот ответ, который мы сейчас получили только что, а на первую часть может быть ещё какие-то слова будут сказаны. Значит, подписано: доцент кафедры биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования – Российский государственный аграрный университет имени Тимирязева, кафедра биотехнологии. Доцент, кандидат биологических наук Поливанова Оксана Борисовна. Ну вот, два слова скажите?

**Иванов Вадим Тихонович:** Ну, то есть на одно замечание уже ответ мы имели. Пожелание насчёт того, чтобы было больше сортов – ну хотели бы услышать ваше мнение.

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Да, я согласна, что было бы очень интересно провести дополнительные исследования на разных по устойчивости сортах, тем более у нас, как вы уже поняли, имеются сорта с различной устойчивостью к разным стрессам. Но, к сожалению, на данный момент времени мы провели анализ только двух сортов. Я это замечание учту на будущее, если будет такая возможность, мне самой будет очень интересно проверить другие сорта картофеля, и может быть не только картофеля. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Всё понятно. Спасибо. Давайте перейдём к заслушиванию официальных оппонентов. У нас тут два оппонента, один к сожалению заболел. Сначала мы слушаем того, кто присутствует, это речь идёт о Василии Николаевиче Лазареве. Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России.

**Лазарев Василий Николаевич:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный).* Добрый день, уважаемые коллеги. Хочу сразу сказать, что, в силу моей специальности мне редко удавалось рецензировать такие, посвящённые растительной тематике «работы», но, тем не менее я с интересом это сделал, поскольку основной акцент этой работы был на протеомику, на анализ экспрессии белков, генов и так далее. Значит, актуальность – об этом было много здесь сказано, это действительно одна из важнейших продовольственных культур. Ну и главными факторами, которые влияют на урожайность, а именно урожайность – главная цель прикладной науки в этой области, да, это абиотические и биотические стрессы. Ну и основной фактор биотического стресса – это вирус, безусловно. Работа посвящена изучению молекулярных механизмов, определяющих ответ растения картофеля на комбинированный стресс, вызванный вирусной инфекцией и тепловым воздействием. Поэтому, я считаю, что тема диссертационной работы безусловно актуальна. Работа построена в традиционном стиле, изложена на 141 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, перечня литературы, включающего 137 источников и двух приложений. Диссертацию предваряет глава Введение, в которой автор коротко подчеркивает актуальность и необходимость...

**Иванов Вадим Тихонович:** Можете вплотную к микрофону, потому что мимо идёт звук.

**Лазарев Василий Николаевич:** А да, хорошо. Подчеркивает актуальность и необходимость проведения настоящего исследования, ставит цели и задачи предстоящей работы, даёт определения объекту и предметам исследования, указывает основные положения, которые выдвигаются на защиту. Кроме того, во введении приводятся данные о научных докладах автора на специализированных конференциях. Обзор литературы. Описываются механизмы устойчивости растений к вирусным инфекциям. Представляет интерес раздел обзора, который посвящён протеомному профилированию как способу изучения механизмов устойчивости растений. В разделе цитируются работы по количественному протеомному анализу с использованием изотопной маркировки. Ну и самое непосредственное отношение к теме настоящей работы имеет часть, которая посвящена изменениям метионинового цикла при взаимодействии вирусов с растениями. В разделе дается краткое описание метионинового цикла, связи его с РНК-интерференцией и роли в развитии противовирусной устойчивости. Прочтение этого обзора литературы, который опирается на самые свежие экспериментальные и теоретические работы, очень важно критичное отношение автора к результатам в этой области, указывает на его высокую, то есть автора, научную эрудицию и хорошее знание литературы по теме диссертации. Кроме того, литературный обзор написан хорошим языком, это я хочу особо отметить, четко структурирован, хорошо иллюстрирован. Если говорить о методической части работы, то безусловно успешное решение поставленных задач обусловлено широким спектром применяемых самых современных методов: это и транскриптомный анализ, и протеомный анализ. В главе Результаты и обсуждение представлены собственно полученные автором результаты. Как уже говорилось,

использовалось два сорта картофеля – устойчивый и восприимчивый. Работа развивалась поэтапно, на первом этапе было показано, что у разных сортов устойчивость может проявляться по-разному, а повышенная температура может увеличивать восприимчивость к инфекции. Далее, для изучения реакции протеома контрастных сортов картофеля на заражение Y вирусом при повышенной и нормальной температуре был проведён количественный протеомный анализ с использованием iTRAQ технологии. Особую значимость работы придаёт проведение относительного и абсолютного количественного протеомного анализа. Тщательно продуманные и профессионально реализованные схемы протеомного профилирования позволили получить довольно интересные результаты. Хочу сказать, что в среднем было идентифицировано 5-6 тысяч белков на эксперимент. Оказалось, что протеомный ответ восприимчивого сорта менее выражен, и на основании этих данных автором было показано, что у восприимчивого сорта снижается продукция всех ключевых ферментов метионинового цикла и связанного с ним фолатного подцикла в ответ на вирусную инфекцию. Ну, диссертантом с использованием количественной обратной транскрипции, полимеразной ПЦР измерено изменение экспрессии генов, кодирующих ферменты метионинового цикла. Кстати, вполне ожидаемо, что в некоторых случаях корреляции не наблюдалось. Тем не менее, этот этап, я считаю, что был необходим для дальнейшего понимания механизмов реакции растений на тепловой стресс и вирусную инфекцию. Достоинством также этой работы является измерение концентрации основных метаболитов метионинового цикла при вирусной инфекции при различных температурах. Показано снижение концентрации S-аденозилметионина, донора метильной группы и увеличение накопления S-аденозилгомоцистеина, ингибитора SAM-зависимых метилтрансфераз. Ну и вот в принципе на этой части возможно было остановиться, построить всевозможные схемы, красивые картинки, но автор на этом не остановился, что говорит о стремлении раскрыть изучаемые явления до конца. И действительно, после измерения концентрации белков и метаболитов были проведены контрольные эксперименты, которые заключались в обработке растений экзогенным метионином. То есть это экспериментальное подтверждение выдвигаемых гипотез, подтверждённых на уровне транскриптомного и протеомного анализов. Ну и оказалось, что обработка инфицированных растений сорта Чикаго экзогенным метионином в условиях теплового стресса ингибирует накопление вирусной РНК в системных листьях растений и сопровождается увеличением индекса метилирования. Ну и вот все эти экспериментальные, теоретические расчёты, биоинформатические расчёты позволили построить схему предполагаемых механизмов, которые лежат в основе восприимчивости либо устойчивости растений картофеля к вирусной инфекции. Если говорить о научной новизне, об этом тоже уже говорили, впервые проведён количественный сравнительный протеомный анализ устойчивых и восприимчивых к стрессам сортов картофеля. Выявлена впервые важная роль ферментов метионинового цикла и свободного метионина в устойчивости. Ну и в принципе вот эти данные, они расширяют и фундаментальные знания о взаимодействии между вирусами и растениями, ну и с практической точки зрения вот эти идентифицированные гены ферментов метионинового цикла могут рассматриваться как перспективные мишени в создании новых сортов, которые устойчивы к различным патогенам. Автореферат диссертации соответствует требованиям ВАК. Материалы автореферата соответствуют основным положениям диссертации. По материалам работ достоверность, естественно, никаких сомнений не вызывает. По

материалам диссертации опубликовано 6 работ, в том числе 3 статьи. Основные положения диссертационной работы представлены в виде устных и стендовых докладов. Значит в целом, работа конечно выполнена, работа прекрасная, хочу сказать, выполнена на высоком научно-методическом уровне.

Есть несколько замечаний: значит в оглавлении отсутствует п. 1.1.4. Зависимость вирусной инфекции от температуры, который, этот раздел, тем не менее, имеется в Обзоре литературы. Следующее: поскольку в разделе 1.2 Обзора литературы речь идет только о изучении механизмов устойчивости растений к вирусам, то следовало было, его следовало бы назвать «Протеомное профилирование как способ изучения механизмов устойчивости растений к вирусным инфекциям». Далее, возможно, следовало бы завершить Обзор литературы суммированием изложенного материала и продемонстрировать его связь с целью диссертационной работы. Таблицу 1 можно было бы заменить одним предложением. Также мне осталась непонятна формулировка следующая: «Поскольку количественный протеомный анализ с использованием меток iTRAQ снижает величину реального изменения представленности белков между двумя образцами...» — вот тут немножко я не понял. Ну и конечно общая беда всех протеомных работ, что на протяжении всего текста диссертационной работы используется выражение «дифференциально экспрессирующиеся белки». Ну вот понятно, что экспрессироваться могут лишь гены. Белки синтезируются или продуцируются, как угодно. Кроме того, выражения «снижающиеся» и «растущие белки», конечно же являются лабораторным сленгом. Но, высказанные замечания абсолютно не меняют моего общего превосходного впечатления о выполненной работе и её высокой научной ценности. Ну и на основании сказанного выше, я делаю вывод, что диссертация Спеченковой Надежды Андреевны представляет собой законченное квалификационное научное исследование, выполненное на актуальную научную тему, в ходе которого получены новые данные, имеющие существенное научное и практическое значение для биотехнологии, и соответствует всем указанным критериям, перечислять не буду, а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо, Василий Николаевич. Ну, положено отвечать на замечания, хотя они такие, не решающие, но тем не менее.

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Спасибо большое, за вашу высокую оценку моей работы. По поводу замечаний – да, действительно я пропустила при составлении оглавления диссертации пункт 1.1.4, я сама не понимаю, как это произошло, потому что я использовала заголовки и автособирание, но видимо не везде, и когда вычитывала, я это тоже упустила, а это довольно-таки важный пункт моего лит. обзора, и, надеюсь, что это не исказит впечатления от работы у тех, кто будет её читать (если кто-то будет читать). В общем да, я согласна с этим и приношу свои сожаления. Второе замечание по поводу переименования пункта 1.2 обзора я тоже абсолютно согласна, действительно я там рассматривала только механизмы устойчивости к вирусам и стоило добавить к этому пункту, назвать его «Протеомное профилирование как способ изучения механизмов устойчивости растений к вирусным инфекциям», да, абсолютно согласна. Следующее замечание: Таблицу 1 можно было бы заменить одним предложением – я тоже согласна, просто мне показалось, что таблица может облегчить восприятие предоставляемой

информации, чем просто «сухим» текстом. Ну, в целом я согласна. Значит, следующее замечание по поводу непонятной формулировки – да, я не очень удачно выразилась. Я хотела просто объяснить, что мы взяли «отсечку» в 20% для определения дифференциально регулируемых белков, надо было более удачно переформулировать. И последнее замечание по поводу «дифференциально экспрессирующихся белков» – да, действительно, я очень долго ломала голову, как это перевести с английского языка и вот остановилась на таком варианте, который я увидела в некоторых русскоязычных публикациях, но видимо не стоило принимать их как эталон. И вот в своём докладе я постаралась избежать таких выражений, заменила их на «дифференциально регулируемые белки»; и не «снижающиеся» и «растущие», а «увеличивающие» или «снижающие свою представленность» в протеомном анализе. Да, всё, спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо, у нас есть второй отзыв, профессора Морозова, это институт физико-химической биологии им. Белозерского МГУ, который не смог присутствовать.

**Олейников Владимир Александрович:** *(зачитывает отзыв официального оппонента Морозова С.Ю.)* В руках у меня отзыв, который я, ну наверное его зачитывать уже особенно нет смысла, потому что опять же это стандартный подход, посвящена работа изучению молекулярных механизмов, определяющих ответ растений на комбинированный стресс, подчёркивается новизна, описывается опять же построение по традиционной форме работы. Достаточно детально рассмотрены разные аспекты проблем устойчивости картофеля к вирусу. Экспериментальная часть, несколько частей, дальше перечисляются те достижения, которые были в работе: сопоставление Чикаго и Гала. Я просто листаю, это просто замечательно всё очень написано, очень позитивно и наконец, 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. Приведенные мелкие замечания, естественно, не снижают значимости всей работы. Выводы, сделанные диссертантом достаточно обоснованы, а автореферат отражает содержание работы. Важно отметить, что данная работа имеет весьма высокую практическую ценность для сельскохозяйственной биотехнологии. И принимая во внимание изложенное выше, считаю, что диссертационная работа Спеченковой Надежды Андреевны полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертационным работам, согласно положению, а сама она достойна присуждения степени кандидата химических наук по специальности Биотехнология, 1.5.6. Это официальный оппонент, заведующий лабораторией генной инженерии вирусов, Научно-исследовательский институт физ.-хим. биологии имени Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени Ломоносова», доктор биологических наук, профессор Морозов Сергей Юрьевич. Ну, практически без замечаний.

**Иванов Вадим Тихонович:** Надежда Андреевна, вы согласны с англицизмами? Синтаксисом и прочим?

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Да.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Значит, мы заслушали все отзывы, остаётся провести общую дискуссию. Кто хотел бы дать свои пожелания по поводу голосования? Аргументы? За и против. Или у всех уже мнение созрело?

**Олейников Владимир Александрович:** Ну, можно я два слова скажу.

**Иванов Вадим Тихонович:** Давайте. А, Сергей Кириакович хочет сказать два слова, да, прошу, прошу.

**Завриев Сергей Кириакович:** Уважаемые коллеги, мы эту работу Надину заслушали на семинаре нашего отдела, поэтому много было сказано, я ничего не хочу особенно добавить, хочу сказать, что объём работы действительно проведён большой и выбранные, так сказать, два биотических, с точки зрения как биотический фактор, стресса это Y вирус картофеля, который является сегодня наиболее, так сказать, распространённым и важным для картофелеводства, и различные его штаммы, это совершенно очевидный фактор, который нужно было как биотический использовать в работе. И сорта были удачно подобраны, так сказать, для того, чтобы сравнения все проводить и исследования. И биотический (*абиотический*) стресс, в смысле, то, что касается, так сказать, потепления, да. Ну потепление это вообще грядущая может быть проблема, да, глобальное потепление. И вот оба эти фактора, да, слава богу, они не имеют, так сказать, отношения к санкциям возможным, которые можно ввести, поэтому это, так сказать, в независимости от времени и всего. Вот, поэтому я хотел сказать, что в принципе, я надеюсь, что продолжение этой работы будет Надеждой под руководством Михаил Эммануиловича проведено активное. И важно, наверное, будет вот если Надежда потом будет писать докторскую диссертацию, чтоб она была в общем-то посвящена ещё, так сказать, если это будет продолжение этой работы, максимально чётко и грамотно, так сказать, выразить и сформулировать, и показать, сделать работу о том, насколько важно можно применить, так сказать, полученные результаты в практическом плане, потому что без понимания механизмов молекулярных, так сказать, которые сейчас сделаны, так сказать, вот этот протеомный, геномный анализ, такой подробный, да. И на его базе наверное можно будет сформулировать более чётко какие-то, так сказать, предложения или пути для того, чтобы усовершенствовать генетически или какими-то другими методами устойчивость картофеля ко всем стрессам и, возможно, и конечно нужно и к другим вирусам. Поэтому я думаю, что ни у кого не вызывает сомнений, так сказать, качество работы, то что она хороша и заслуживает положительного, так сказать, положительной оценки членами учёного совета. Всё.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Учтём ваше мнение. *Обращается к Владимиру Александровичу:* –У вас было что добавить? Прошу.

**Олейников Владимир Александрович:** Всего два слова я скажу, потому что, просто в дополнение. В общем-то, Сергей Кириакович высказал тоже и моё мнение, мне работа понравилась, мне понравилось выступление. И тут два момента, в общем-то это не совсем традиционно как-то для нашего совета, редко у нас защищаются работы по растениям. И это очень приятно, то, что вот мы сегодня послушали, и это важно. Это первый момент. И второе, в общем-то очень умело применены методы масс-спектрометрии и методы протеомики. Конечно сейчас они очень развиты и, в общем-то, есть и базы данных и есть программы по обчёту, но всё равно здесь требуется личность исследователя, который вот

это может осознать, выявить закономерности. Ну вот эти закономерности мы в начальной части доклада, когда нам приводили вот эти вот диаграммы, связи, потому что ну действительно, огромные протеомы, очень большие, и из этого выявить какие-то вот такие вот связи, закономерности, не так просто, с одной стороны, но с другой стороны это очень важно. Ну и вот заключая, я тоже хочу поддержать, что работа очень хорошая и призываю голосовать «За».

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Кто-нибудь ещё хотел бы выступить?

**Олейников Владимир Александрович:** Александр Габибович.

**Иванов Вадим Тихонович:** Александр Габибович, прошу.

**Габибов Александр Габибович:** Да, дорогие друзья. Ну, конечно, очень жаль, что Михаил Эммануилович, по понятным всем нам причинам, он стремился к нам попасть, но обстоятельства были выше его. Я хочу выступить здесь вот как директор, очень хорошая защита. Но я благодарен этому коллективу, под руководством Михаила Эммануиловича и, значит, Сергею Кириаковичу как руководителю отдела. Замечательная диссертация, очень приятно, что у нас вот действительно растительная тематика вышла на совершенно современный уровень, чего ранее не было. Вот и поэтому конечно, с приходом этой лаборатории и вот, так сказать, расширения отдела, мне кажется, что мы, может быть, как разовьётся дальше жизнь, но мы может быть будем в этом плане совершенно на достойном уровне. И то, что в общем, не хочу говорить плохо про другие какие-то коллективы, но вот в отличие от некоторых институтов сельскохозяйственного направления, я считаю что то, что у нас это делается действительно на молекулярном уровне, как с точки зрения молекулярной биологии, так и с точки зрения современной биохимии, это в общем нас весьма обнадеживает. Поэтому я рад был заслушать эту диссертацию и пожелать дальнейших успехов диссертанту, диссертантке в её развитии. Спасибо большое. И предлагаю тоже проголосовать «За». Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо, Александр Габибович. Есть ещё желающие? Поделиться советами, мнением? По-видимому достаточно. Ну тогда я даю слово диссертанту. Можете заключить сегодняшнее обсуждение.

**Спеченкова Надежда Андреевна:** Да, я много кого хотела поблагодарить, даже подготовила отдельный слайд, чтоб не забыть. Но всё равно я, как говорится, забыла некоторых, но я упомяну. Ну, в первую очередь хочется поблагодарить моего научного руководителя, Тальянского Михаила Эммануиловича, у которого к сожалению не получилось лично присутствовать, но, я думаю, что современные технологии в виде трансляции «зума» компенсируют это. Мои большие благодарности, без него не было бы этой работы и меня, как учёного. Помимо этого хотелось бы поблагодарить официальных оппонентов, особенно Лазарева Василия Николаевича, который нашёл время приехать, выступить, поддержать меня. Спасибо большое. Ну и Морозову Сергею Юрьевичу, который к сожалению приболел, тоже «спасибо» хотела выразить. И, Соловьёву Александру Александровичу из ВНИИСБ, который любезно согласился написать отзыв ведущей организации. Кроме того, очень благодарна коллегам из лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, Игорю Александровичу, который поддерживал мою работу, и остальным коллегам, которые поддерживали морально,

духовно. Из дружественного института Белозерского, у меня огромная благодарность Калининой Наталье Олеговне, которая по сути была моим вторым научным руководителем, мне помогала, отвечала на мои вопросы, помогала с вычиткой и по многим, в общем, параметрам. Также остальным коллегам из этого института, многие из них уже там не работают, но тем не менее, на период подготовки моей диссертации они были сотрудниками и тоже оказывали мне огромную поддержку. Здесь я хочу выделить Лезжова Александра, без которого я бы не пошла в аспирантуру, спасибо. Вот, и также хотелось отметить сотрудников Дока-Генных Технологий, это селекционная картофелеводческая фирма, которая собственно предоставляла нам сорта, на которых проводилась моя работа; Супруновой Татьяне Павловне и директору – Чуенко Александру Михайловичу. И спасибо всем собравшимся, что нашли время поддержать меня, прийти сегодня, спасибо!

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо вам. Мы завершили все необходимые действия, предшествующие голосованию. Значит, я объявляю перерыв на голосование, но прошу не расходиться, пока будет идти подсчёт.

*(Идёт тайное голосование)*

**Иванов Вадим Тихонович:** Коллеги, я так понимаю, что процесс голосования близится к завершению. Прошу занимать места. С нетерпением ждём итогов подсчёта голосов. Помоему, там уже подписи идут. Так, счётная комиссия завершила свою работу, готова нам доложить.

**Олейников Владимир Александрович:** Диссертация Спеченковой Надежды Андреевны: роздано бюллетеней – 21, оказалось в урне бюллетеней – 21, «За» – 21, «Против» и недействительных – нет.

**Иванов Вадим Тихонович:** Прошу утвердить доложенные итоги голосования, кто за? *(утверждены единогласно).*

*(Далее идет голосование по проекту заключения совета. Проект заключения совета принимается единогласно.)*

**Иванов Вадим Тихонович:** Поздравим диссертанта с успешной защитой. И спасибо за работу, до следующей встречи.

Председатель  
диссертационного совета

д.х.н., академик РАН Иванов В. Т.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



д.ф.-м.н. Олейников В. А.