



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

## **СТЕНОГРАММА**

заседания диссертационного совета 24.1.037.01

15 июня 2022 года

Защита диссертации **Фесенко Игорем Александровичем** на тему:

**«СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ПЕПТИДОМА РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ  
МХА PHYSCOMITRIUM PATENS»**,

представленной на соискание учёной степени

доктора биологических наук

Специальность 1.5.3 - Молекулярная биология

Москва - 2022 г.

## СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета 24.1.037.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 15 июня 2022 года.

Зам. председателя диссертационного совета

Доктор физико-математических наук

Р.Г. Ефремов

Учёный секретарь диссертационного совета

Доктор физико-математических наук

В.А. Олейников

Из 30 членов совета присутствует 20 человек, из них докторов по профилю диссертации – 6.

1. Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(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.	Белогуров Алексей Анатольевич	(1.5.3)
5. Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(1.5.6)
6. Академик РАН, д.х.н.	Габибов Александр Габибович	(1.5.6)
7. Академик РАН, д.б.н.	Деев Сергей Михайлович	(1.5.3)
8. Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(1.4.9)
9. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(1.5.3)
10. Академик РАН, д.х.н.	Донцова Ольга Анатольевна	(1.5.3)
11. Член-корр. РАН, д.б.н.	Завриев Сергей Кириакович	(1.5.6)
12. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(1.5.6)
13. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(1.5.3)
14. Академик РАН, д.х.н.	Мирошников Анатолий Иванович	(1.5.6)
15. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(1.4.9)
16. Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(1.4.9)
17. Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(1.4.9)
18. Член-корр. РАН, д.х.н.	Цетлин Виктор Ионович	(1.4.9)
19. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(1.4.9)
20. Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(1.4.9)

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Уважаемые коллеги, добрый день. Позвольте открыть очередное заседание нашего диссертационного совета. Сегодня у нас в повестке дня две защиты. Одна защита докторской диссертации и защита диссертации на соискание ученой степени кандидата наук. Кворум имеется, поэтому наше собрание полномочно. И я предлагаю перейти к рассмотрению первой работы.

Первое заседание сегодня будет посвящено защите Фесенко Игорем Александровичем диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук на тему: «Системный анализ пептидома растений на примере мха *Physcomitrium patens*», если я правильно произношу, по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Научный консультант работы, безвременно ушедший от нас Иванов Вадим Тихонович, академик, доктор химических наук. Официальные оппоненты по диссертации Фесенко Игоря Александровича Лисица Андрей Валерьевич, доктор биологических наук, академик РАН, главный научный сотрудник группы биобанкинга, руководитель центра научно-практического образования Научно-исследовательского института биомедицинской химии имени Ореховича. Лось Дмитрий Анатольевич, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Института физиологии растений имени Тимирязева Российской академии наук. Макеев Всеволод Юрьевич, доктор физико-математических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией системной биологии и вычислительной генетики Института общей генетики имени Вавилова Российской академии наук. В качестве ведущей организации выступает Федеральное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный университет. Сейчас я предоставляю слово Владимиру Александровичу, ученому секретарю, который ознакомит присутствующих кратко с содержанием личного дела Фесенко Игоря Александровича.

**Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович:** *(зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что объявление о защите и автореферат диссертации на сайте ВАК размещены вовремя и все необходимые документы в деле есть).*

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Коллеги, есть вопросы по поводу личного дела, представленного Владимиром Александровичем? Если вопросов нет, тогда, Игорь Александрович, Вам слово. Просьба представить основные положения Вашей работы, регламент 40 минут.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** *(излагает основные положения диссертационной работы).*

**Соискатель (Фесенко И.А.):** К сожалению, судьба распорядилась так, что Иванов Вадим Тихонович *[научный консультант работы]* не дожил... Но я ему очень благодарен за то время, которое провел рядом с ним. Очень многому научился у него. Это, действительно, очень большая потеря. Также я хотел бы поблагодарить большое количество коллег, которые участвовали в этой работе на разных ее этапах. Всем я очень благодарен. Если я кого-то здесь не указал, это только, вот, недостаток места и времени. Спасибо большое.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Игорь Александрович, у вас еще будет возможность после дискуссии более подробно, может быть, поблагодарить

коллег.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо большое. Так, мы приступаем к обсуждению работы. Вопросы, пожалуйста, есть. Да, пожалуйста.

**Зав. лабораторией функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Работа очень нестандартная, академический продукт очень мощный и основательный, безусловно, на мой взгляд. Характеристика работы. Работа нестандартная, это единичный продукт. Очень основательная и очень мощная. Из вопросов у меня, ну, вопрос по первой части, то, что касается антимикробных пептидов. Вот, скажите, пожалуйста, насколько я понял, вы сначала смотрели секреты, да, не индивидуальные пептиды.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Не совсем так.

**Зав. лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Это так или не совсем так?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Нет, не совсем так.

**Зав. лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Ну, значит, я что-то упустил.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Мы смотрели внутриклеточные сначала, потом секретруемые. То есть, те, которые мы видели вне клетки, наверное...

**Зав. лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Нет, вы смотрели смеси, да, сначала? Не индивидуальные пептиды?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Ну, смесь пептидов, мы, когда ее идентифицируем спектрометрически, мы понимаем каждый пептид. Вы имеете в виду, выделяли ли мы этот пептид из пептидома?

**Зав. лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Да, да.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Нет, мы синтезировали эти пептиды.

**Зав. лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Вы их предсказывали и синтезировали.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Мы их идентифицировали, и дальше для уже анализа синтезировали.

**Зав. лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Все понятно тогда. И другой вопрос, какое биологическое значение имеет присутствие таких антимикробных пептидов в протопластах, да, в секрете из протопластов. Это что, защита растения просто от возможных бактериальных заражений?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, это такая первая линия защиты. Вообще, есть такая гипотеза, которая мне очень нравится, но нам ее, конечно, еще нужно будет доказать, что вполне возможна деградация функциональных белков с выщеплением критических последовательностей. Это что-то очень древнее, которое было вообще с самого начала, некий прообраз такой иммунной системы, когда клетка деградирует свои белки, выщепляя

вот эти крептиды, которые уже обладают какой-то активностью. И они уже ингибируют какие-то фитопатогены. То есть, такая первая линия защиты до того, как началась транскрипция защитных генов, продукция рос, это очень быстро. То есть, изменилась протеазная активность. На примере фитоцитоклина PEP было показано, что повреждение клеточной стенки приводит ко входу ионов кальция внутрь клетки, это активирует метакаспазу, выщепляется PEP и сигнализирует окружающим клеткам о том, что, вот, что-то не в порядке. По всей видимости, здесь это схожий механизм. То есть, либо сигналинг, либо какая-то антимикробная активность.

**Зав. лаборатории функциональной геномики и протеомики растений, д.б.н. Тальянский М.Э.:** Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Пожалуйста.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** Хрусталева Людмила Ивановна, Российский государственный аграрный университет, Тимирязевская академия. Игорь Александрович, спасибо огромное за очень интересный содержательный доклад. Предыдущий мой коллега спрашивал об антимикробном действии, собственно, снял мой вопрос первый. И, тем не менее, я бы хотела по этому вопросу. Механизм антимикробного действия? Я понимаю, что вы не занимались самим микробом, да. Может быть, из литературы.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, мы не изучали. Но обычно это встраивание в мембрану, то есть, это поры, образование пор в мембране за счет встраивания пептидов. И нарушение проницаемости.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** В мембрану бактерии?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, да.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** За счет нарушения...

**Соискатель (Фесенко И.А.):** И гибель, да. Существует несколько там...

**Хрусталева Людмила Ивановна:** Если позволите, второй вопрос.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Да, конечно.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** Один класс вот этих пептидов образуется в результате деградации белков. Другой – когда, например, длинные некодирующие, с них считывается, происходит транскрипция.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** И затем уже в рибосоме образуется пептид?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** Тогда, какая РНК полимеразы? Полимераза вторая это делает?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, полимеразы-2. То есть, большое количество длинных некодирующих РНК, на самом деле, содержит и КЭП, и полиохвост, то есть, они ничем не отличаются от мРНК. И поэтому они способны, да, теоретически.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** То есть, идет процессинг?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** Обычный процессинг.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, да.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** Благодарю вас.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Коллеги, еще вопросы. Пожалуйста, Николай Владимирович.

**Д.х.н. Бовин Николай Владимирович:** У меня тоже вопрос про противобактериальные пептиды. Вы наблюдаете огромное количество пептидов, это десятки, сотни тысяч. А выбрали для синтеза и проверки противобактериального действия буквально единицы, 6 или 8.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Десятки. Там около 10.

**Д.х.н. Бовин Николай Владимирович:** Вы не могли бы объяснить, чем вы руководствовались, когда выбрали именно эти пептиды? И второе, что я хотел вас попросить. Я не уловил, объясните, пожалуйста, что вы называете областью пониженной сложности или низкой сложности.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, хорошо, спасибо за вопрос. Касательно первого вопроса. Мы использовали предсказанный антимикробный потенциал. Есть программы, основанные на машинном обучении, которые способны по аминокислотному составу предсказывать антимикробный потенциал пептидов. То есть, мы брали те пептиды представленные, из которых растёт, или они заново образуются в стрессовых пептидомах. То есть, их не было в контроле, или они были, но в каком-то низком количестве. А потом уже, при стрессе, их количество росло. И обладали хорошим антимикробным потенциалом. И вот такие пептиды мы брали для анализа. Мы брали и контроль, то есть, те пептиды, которые обладали низким антимикробным потенциалом для того, чтобы было с чем сравнить. Таким образом происходил отбор.

**Д.х.н. Бовин Николай Владимирович:** Извините, уточните, пожалуйста. Те пептиды, которые вы выбрали в результате этого анализа. Это все-таки оригинальные пептиды или те, которые были известны раньше?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Нет, это оригинальные пептиды, то есть, это продукт деградации, да. То есть, мы антимикробные пептиды, дефензин, еще какие-то, мы их не смотрели. Второй вопрос, да, я прошу прощения, как-то упустил это. Регионами низкой сложности, или лоу комплексы риджинс, называются те участки, где либо идет повторение одного, либо двух нуклеотидов или аминокислот. То есть, достаточно протяженные участки, где, как здесь, например, стретч, такая... Наверное, на примере проще показать. Вот здесь микробелок, здесь идет четыре пролина подряд. Вернее, пролин, пролин, пролин и... То есть, вот этот регион содержит всего лишь три аминокислоты. То есть, разнообразие очень низкое. То есть, регион, в котором нуклеотидное или аминокислотное разнообразие очень низкое, называется регионом низкой сложности.

**Д.х.н. Бовин Николай Владимирович:** То есть, физик сказал бы, что это регионы... Как бы физик сказал? Высокой выраженности, да?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Малого разнообразия.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Последовательности, да.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** И там очень много параметров, я просто в это не углублялся. Можно выделять гомополимеры, можно задавать эти параметры отсечки, насколько это будет сложным или нет. Существует программа, которая это делает в автоматическом режиме. Но для данного пептида на стандартных настройках, например, он определяется как содержащий регион низкой сложности за счет, вот, низкого разнообразия.

**Д.х.н. Бовин Николай Владимирович:** Спасибо.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Пожалуйста, Татьяна Владимировна.

**Д.х.н. Овчинникова Татьяна Владимировна:** Игорь, у вас замечательная схема есть в завершении вашего автореферата о том, какие общие пути способствуют формированию пептидома мха. Но в этой схеме, чего мне не хватает, так это сигнальных путей, которые приводят к формированию этого пептидома. Потому что известно, что у растений множество сигнальных путей участвует в ответе на стресс, обеспечивают тем самым адаптацию растений, допустим, к заморозкам, как у мхов, к засухе, к засоленности почвы, к другим стрессогенным условиям. Это и циклоденилатная система, и MAP-киназная, и кальциевая, и супероксидсинтетазная, ноосинтетазная, можем продолжать этот список. Дополните вкратце, все-таки по поводу мха, что известно о сигнальных путях, которые участвуют в формировании пептидома в условиях стресса. И есть вторая сторона этой медали. Вот эти пептиды, они ведь, наверняка, обладают не только антимикробным действием?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да.

**Д.х.н. Овчинникова Татьяна Владимировна:** Они обладают, в первую очередь, регуляторным действием. То есть, в каких сигнальных путях участвуют сами продукты синтеза пептидома, то есть, вот эти пептиды, которые позволяют регуляторно влиять на иммунную систему мха и позволять ему так хорошо адаптироваться к внешним условиям и выживать в процессе эволюции?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, спасибо за вопрос. Нужно сказать, что мы здесь разделяем пептиды на те, которые имеют сигнальную функцию, то есть то, что сейчас называют фитоцитокинами. Это пептиды, которые имеют рецептор, да, связываясь с рецептором, идет сигналинг через map-киназы происходит индукция защитного ответа, продукция активных форм кислорода, индукция защитных генов. Мы не уверены, что все из наших пептидов... Мы считаем вообще, что только единичные из наших пептидов могут вот таким действием через рецепторы обладать. Скорее всего, основное действие других пептидов, оно связано, вот... Либо это антимикробная активность, связывание с бактериальными клетками, либо это взаимодействие с какими-то белками.

Для продуктов деградации функциональных белков у человека есть несколько примеров,

когда идет связывание с каким-то белком, и таким образом регулируется его функция. Наш объект обладает всеми характеристиками покрытосеменных, то есть, у него есть и рецепторы, и корецепторы, и бик, бак. То есть, все цитоплазматические киназы. Есть мап-киназы. Все есть. Но в нашей работе мы специально не концентрировались на тех пептидах, которые работают через рецептор, через вот этот известный сигналинг, потому что этим очень многие занимаются. Поэтому для нас эта гонка была не очень интересна. А мы хотели именно посмотреть на пептиды, действие которых будет происходить по-другому.

**Д.х.н. Овчинникова Татьяна Владимировна:** Спасибо.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Пожалуйста, коллеги. Да, Алексей.

**Д.х.н. Белогуров Алексей Анатольевич:** Я бы хотел вам задать два вопроса. Первый по поводу сравнения ваших данных с рибосексом, потому что, по идее, это очень логично. Если есть такие данные для ваших модельных организмов, то наложить одно на другое, посмотреть все-таки, где рибосомы. И второе, по поводу пептидов, которые вы видите внутри каких-то рамок, больших рамок считывания, вы видите некую альтернативную рамку, которая, я так понял, что она, естественно, смещена.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да.

**Д.х.н. Белогуров Алексей Анатольевич:** То есть, находится не в единой рамке считывания с основным белком.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, конечно.

**Д.х.н. Белогуров Алексей Анатольевич:** И вот здесь мне интересны две вещи. Первое, нет ли тенденции того, что эти рамки, они смещены к 5'-концу, потому что логично. Рибосома, все-таки у нас основной механизм, превалирующий на сегодня, это сканирующий. То есть, она все-таки узнает 5'-кэп и, как бы, выбирает один из стартовых кодонов рядом с определенным окружением. То есть, нет ли такой закономерности? И здесь второй еще небольшой вопрос, относящийся к этому же пункту. Какое ощущение у вас, рибосома, она начинает заново, она сбивается, она диссоциирует, реассоциирует прямо на мРНК, когда она синтезирует такие короткие пептиды в составе какой-то большой рамки?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Спасибо за вопрос. Да, рибосомальный рибосек – это, конечно, очень здорово, но у растений с этим большие проблемы. И для нашего модельного объекта нет никаких данных по рибосексу. Есть для арабидопсиса, есть для томата. Это, пожалуй, все, что есть, поскольку есть определенные сложности. Конечно, сейчас, если говорить про биологию коротких рамок, у человека, у животных объектов, считается, что это некая основная методика для выделения тех рамок, которые, действительно, могут транслироваться. И если посмотреть на вот такую пирамиду, то есть, количество рамок, обладающих каким-то кодирующим потенциалом, то это, наверное, десятки тысяч. Рибосек видит, ну, в районе, наверное, 3-4 тысяч рамок на разных транскриптах, которые реально могут транслироваться. Масс-спектрометрия видит сотни.



Поэтому, нет, сравнить мы не можем, и сами мы не делали. Но здесь, опять же, такой дискуссионный вопрос. Многие говорят о том, что масс-спектрометрия, которая напрямую идентифицирует продукт трансляции, короткие рамки считывания – это какой-то более надежный метод, поскольку мы уверены, что, вот, да, продукт, он существует. Связь рибосомы с каким-то старт-кодоном не всегда может указывать на трансляцию или хотя бы на какую-то активную трансляцию. Но я с вами согласен, мы будем к этому двигаться, поскольку это позволит существенно расширить нашу лабильность в выборе функциональных рамок, в их анализе.

Второй вопрос был посвящен, как происходит трансляция таких коротких рамок считывания. Это очень хороший вопрос. Сейчас считается два таких метода, это когда рибосома пересобирается на каком-то, на следующем старт-кодоне, либо она просто проходит и начинает инициацию на следующем. Мы видели, при анализе, мы, правда, этот анализ делали только для транслирующихся рамок, которые расположены на длинных некодирующих РНК, это не совсем то. Но там мы были просто уверены в том, что транскрипты соответствуют тому, что было предсказано в аннотации, поскольку мы использовали нанопору для идентификации этих транскриптов. И там мы видели некое биомодальное распределение. То есть, часть рамок была смещена к 5-штрих концу, часть рамок была смещена к 3-штрих концу. В случае вот этих коротких рамок, мы таких закономерностей не видели. Но мы предполагаем, что это, видимо, это все-таки какой-то Leaky scanning, то есть, она проходит, рибосома, и начинает инициацию. Но, вот, все, что касается эволюции этих рамок, мы, кстати, видим, что их количество, ортологов, падает очень сильно в отдаленных видах. То есть, как будто они выбраковываются из белоккодирующих последовательностей, что, наверное, логично, потому что они мешают транслировать основную белоккодирующую рамку. По всей видимости, так.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Коллеги, еще будут вопросы? Пожалуйста.

**Д.б.н. Долгих Дмитрий Александрович:** Скажите, пожалуйста, правильно ли я понимаю, что, вот, среди того огромного разнообразия пептидов, которые получаются в результате различных механизмов, где-то один процент, может быть, меньше-больше, обладают функциональной активностью. Или, может быть, эта величина существенно выше, но мы просто не можем это видеть, в силу ограниченности точности наших методов. В принципе, может быть, даже половина важны для каких-то целей, но не таких ярких, когда, вот, рост сильно увеличивается, может быть, для каких-то других механизмов. Как вы считаете, по литературным данным, по вашим?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, это очень хороший вопрос, который мы все время обсуждали. Я считаю, что большинство пептидов, которые мы видим, это все-таки некий шум протеолиза функциональных белков. Сложно оценить количество, действительно, функциональных. Здесь еще тот вопрос, который нас интересовал, а, вот, в какой-то момент этот пептид был нефункциональным, вдруг он в какой-то момент становится функциональным. То есть, например, эволюция тех же сигнальных пептидов, каким образом она происходит. И я не уверен, что половина из них, но, наверное, может быть, 10-20% могут, действительно, быть функциональными.

Здесь еще мы тоже часто обсуждали очень вопрос, мы привыкли мыслить категориями

каких-то отдельных пептидов. Вот, пептид, некая функция, да. Но пептидом – это такая очень лабильная структура, которая реагирует на какие-то внешние воздействия. Вполне возможно, что сам пептидом с пептидами, которые взаимодействуют с другими белками, вся эта структура, она, в действительности, может сама по себе что-то делать. Пример, у животных это пептиды, которые связаны с комплексом гистосовместимости. Это целая отдельная структура, отдельная функция пептидома, которая, вроде бы, связана с отдельными пептидами, но в то же время больше мы говорим о ней, как о целом иммунопептидоме, нежели о том, что конкретно этот пептид нужен для того, чтобы запустить какой-то ответ. Я бы, наверное, так ответил на ваш вопрос.

**Д.б.н. Долгих Дмитрий Александрович:** Спасибо.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Пожалуйста.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** В начале вы говорили о тех пептидах, которые получаем при деградации белков. И вы говорили, что это происходит определенным образом. Каким образом? Что, какие-то определенные последовательности есть каких-то белков всегда уходят в пептид, а остальное все деградирует до аминокислот?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Если посмотреть на то, как выглядит вот такой паттерн деградации, то он схож у многих-многих белков. То есть, мы видим определенные области, покрытые этими пептидными лестницами. Вполне возможно, что эти области, которые, например, выщепляются протеасомой, а дальше уже в цитоплазме происходит какая-то деградация карбоксиаминопептидазами с разных концов, но паттерны схожи. А при стрессовых, например, определенные области белка, которых раньше не было, они становятся покрытые эндогенными пептидами. То есть, в этой области начинает происходить их выщепление. А механизм, опять же, либо связан с протеасомой, либо связан с действием специализированных протеаз, которые начинают выщеплять какую-то последовательность из белка.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** А место посадки протеасомы – это известно?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** В общем-то, протеасома обладает четырьмя известными активностями. Если брать вот этот набор данных, который здесь справа, это как раз пептиды, которые были химически связаны с протеасомами, а потом идентифицированы масс-спектрометрически. У них очень четко, здесь очень четко видны и аминокислоты, которые как раз связаны, на С и N концах, которые как раз связаны с протеасомальной активностью. То есть, теоретически это можно предсказать – где будет происходить протеолиз.

**Хрусталева Людмила Ивановна:** Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Кстати, позволите? У меня вопрос как раз связан с этим вопросом. Рискну предположить, хотя это можно, наверное, довольно просто показать, что вот эти сайты щепления, они, возможно, имеют отношение к пространственной структуре этих белков. Вы не пробовали наложить просто на пространственную структуру белков, для которого есть эта информация. И участки, экспонированные в растворитель, скажем, там, неупорядоченные, петли, и так далее,

которые могут быть подвержены действию протеаз, они как раз и определяют границы этих областей.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, я с вами абсолютно согласен. Мы делали для мембранных хлоропластных белков, и там, действительно, видно, что...

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** С мембраной понятно, она защищает просто.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да. Цитоплазматически мы не анализировали, поскольку достаточно мало структур, но, да, это, конечно, действительно, может быть и так. Хотя, считается, что перед входом в протеасому, например, белок разворачивается и входит уже туда не в такой вот форме.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Есть теория, что он частично разворачивается, какие-то там элементы структуры и сверхвторичной структуры остаются. А вот эти вот подвижные участки...

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да. Но мы этот вопрос не изучали. Да, возможно. Возможно.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Это мой первый был вопрос. Если позволите, я еще второй, более общий вопрос. То есть, вы уже неоднократно говорили о том, что биологическое действие, механизм этого действия большой популяции пептидов, причем, которые сильно отличаются и длиной, и своим окружением, то есть, имеют разную структуру. То есть, речи о том, что идет очень специфичное взаимодействие с мишенями, не идет, правильно? Пептид может принимать разные конформации, ансамбль состояний. И, как бы, связываться с высокой аффинностью в нужное время в нужном месте с конкретной мишенью, не может такой ситуации надежно воспроизводиться в клетке. То есть, идет какое-то, видимо, давление за счет того, что вот этот пул пептидов меняет, может быть, какие-то физико-химические свойства раствора.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, такое может быть.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** То есть, вот этот краудинг-эффект, он накапливается... Это мое предположение. Когда-то с Вадимом Тихоновичем и с Андреем Карелиным, его учеником, мы это обсуждали.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Несколько лет назад я к вам тоже подходил с вопросом, можно ли предсказать эти структуры вообще.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Сейчас эта область с каплями, которые существуют в клетках, с высокой концентрацией биомакромолекул, она какое-то такое сейчас переживает взрывное развитие. То есть, может быть, у вас какие мысли есть насчет того, как вот такое вот, области с высокой концентрацией пептидов, потому что они же не везде.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, конечно, локальные какие-то.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Локализованы только там, где есть белки-предшественники. То есть, там создается высокая концентрация вот этих пептидов, и они меняют физико-химию, скажем так, в этом месте. Что-то идет, какой-то сигналинг идет по-другому. Как вы считаете, что это может в итоге... То есть, не

специфика работы.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, не конкретная последовательность, а набор каких-то пептидов с определенными свойствами. Да, это очень интересно, мы тоже об этом думали. Тем более, что сейчас это, действительно, такая взрывная область, допустим, для тех же длинных некодирующих ДНК, для транскриптов показано, что они могут формировать вот такие структуры как капли. Их функция, в зависимости от этого, меняется. Я думаю, что использование таких методов позволит нам вообще глубже понять сам пептидом, что он из себя представляет. Но здесь нужно понимать, что тот пептидом, который мы видим, это пептидом, обладающий определенными характеристиками, пептиды, которые мы можем идентифицировать масс-спектрометрически. Которые мы можем выделить, идентифицировать. Мы тоже эту недавно работу проводили и видели, что те пептиды, которые мы видим, это пептиды с определенными свойствами. Например, менее гидрофобные, обладающие... У меня, к сожалению, здесь под рукой картинок нет, но обладающие большим количеством, меньшим количеством ароматических кислот пептидомы, внутриклеточные, внеклеточные тоже отличаются по предсказанным физико-химическим свойствам. И поэтому, видимо, следующее такое направление – это более глубокое понимание, как они могут менять сам этот раствор. Это тогда как раз к вопросу не о действии отдельных пептидных молекул, а о действии целого набора этих пептидов, которые в разных условиях как-то по-разному взаимодействуют.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Да, очень интересно. Спасибо. Коллеги, если больше вопросов нет, тогда продолжаем обсуждение работы. Владимир Александрович, тогда у нас сейчас отзыв, заключение организации, где выполнялась диссертация. Переходим к заслушиванию отзывов о работе.

**Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович:** *(Оглашает отзывы. Отзывы положительные. Отзывы прилагаются.)* Во-первых, там, по нашему протоколу, сначала отзыв научного руководителя. И мы, порой, приглашаем сюда консультанта. В данной ситуации я хочу начать с того, что у меня в руках отзыв, который подписан еще при жизни Вадимом Тихоновичем. Отзыв очень теплый. Здесь подчеркивается умение Фесенко критично относиться к собственной работе, его открытость к новым знаниям и методам. И это позволило провести исследование на высоком экспериментально-теоретическом уровне. Отмечается, что под руководством Фесенко выполнена целая серия работ различных магистерских, в общем, работа со студентами. Соответственно, считаю, что Игорь Александрович Фесенко является полностью сформировавшимся научным исследователем, руководителем, и так далее, и тому подобное. То есть, очень теплый отзыв, очень положительный от консультанта.

Теперь непосредственно заключение. Естественно, выполнялась, уже как было сказано в начале, выполнялась работа в нашем институте. Биографические данные были уже зачитаны сегодня. Поэтому я это опущу. Из важного, что надо отметить в данной ситуации – это то, что тема утверждена вовремя, еще в феврале 2021 года, достаточно задолго. Эта работа диссертационная была обсуждена на открытом семинаре отдела молекулярной биологии и биотехнологии растений в нашем институте. И по итогам следующее заключение. Опять же, в заключении говорится многое из того, что мы сегодня слышали во время выступления и во время прекрасных ответов на вопросы. Поэтому я основную

часть хочу здесь опустить, разрешите мне опустить.

Соответственно, я хочу подчеркнуть в этом заключении, в первой части работы – то-то, то-то. Во второй части, в третьей части. Очень подробно все это проанализировано. Таким образом, в данной работе были получены важные фундаментальные научные данные о молекулярных механизмах, лежащих в основе пептидогенеза у растений. Проведен функциональный анализ компонентов пептидных пулов растений. Показано, что пептиды, кодируемые короткими открытыми рамками считывания, являются функциональными компонентами растительного протеома. Весь экспериментальный материал получен лично автором или под его руководством. В диссертации соблюдены соответствующие требования Положения о степенях. В конечном итоге диссертация рекомендуется к защите. Заключение принято на заседании отдела молекулярной биологии, биотехнологии растений нашего института. Подписано председателем семинара Сергеем Кириакиевичем Завриевым, замдиректора Ямпольским, и утверждено директором, академиком, Александром Габибовичем Габибовым. Это заключение организации.

Теперь отзыв ведущей организации. Ведущей организацией здесь у нас является Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-петербургский государственный университет. Опять же, классически, актуальность работы здесь подчеркивается, подчеркивается, что протеомы высокой сложностью обладают. Детальная характеристика пептидома соответствующего мха, выполненная в настоящем исследовании, имеет действительно значительную актуальность, которая четко сформулирована автором во введении диссертационного исследования. Структура и содержание работы. Опять же, стандартная структура, изложено 252 страницы, 86 рисунков и 394 ссылки на источники литературы. Обзор литературы посвящен анализу механизма образования пептидов в клетках эукариот. Обзор литературы достаточно детальный, хорошо структурирован. Материалы и методы, опять же, весьма подробно изложены, занимают около 40 страниц, производит благоприятное впечатление, может быть полезен для воспроизведения полученных результатов другими исследователями. Центральный раздел, это 141 страница текста. Опять же, подробно изложено достаточно здесь, подробно изложено то, что мы сегодня с вами слышали во время этого замечательного сегодня доклада. Завершается описанием результатов, заключением, в котором автор суммирует основные полученные данные, выдвигает ряд гипотез, объясняющих их. Достоверность не вызывает сомнения.

Новизна, опять же, представленная, обладает существенной значимостью и новизной эта работа на мировом уровне. Это подчеркивает ведущая организация. Опять же, опубликовано 19 статей.

И, вот, наконец, я добрался до замечаний, которые придется почитать полностью. Текст на некоторых рисунках диссертации слишком мелкий, труден для чтения. Разрешение рисунков не всегда достаточное, порой они выглядят несколько размытыми.

Автор не всегда в полной мере корректен в использовании генетической терминологии. Используя, например, словосочетание «нокаут белка», а корректный вариант «нокаут гена, кодирующего белок». Сверхэкспрессия микробелка, имеется ввиду сверхпродукция микробелка. И тому подобное. Необходимо отметить, что наличие сверхэкспрессии гена, строго говоря, не означает сверхпродукции соответствующего белка, если это не подтверждено методами анализа, такими как вестерн-блот.

Также не очень понятна логика обозначений пептидов и кодирующих их открытых рамок

считывания (гены принято обозначать курсивом, белки нет, но в работе использованы самые разные варианты). Из обзора литературы не очень понятно, есть ли у растений (в частности, у исследованного автором мха) нерибосомные пептиды, и, если есть, то почему они не были исследованы в данной работе. Вероятно, стоило их хотя бы упомянуть.

Весьма любопытны, хотя и не очень подробно обсуждены в диссертации, данные о наличии у некоторых из выявленных пептидов доменов с пониженной сложностью аминокислотного состава. Эти домены склонны к агрегации и образованию упорядоченных агрегатов, в том числе, амилоидных. Известно, что пептиды разных организмов способны к обратимой агрегации, вовлеченной в контроль биологических функций (например, агрегация пептидных гормонов у человека). При этом агрегация белка является одним из характерных маркеров стресса. Не может ли агрегация пептидов растений, имеющих домены с пониженной сложностью, представлять собой один из механизмов физиологического контроля функций пептидома, в том числе, в условиях ответа на факторы стресса? Представляется, что изучение агрегирующей части пептидома растений могло бы иметь существенную значимость в контексте дальнейшего изучения структуры и функций пептидома, но является весьма сложным ввиду высокой стабильности белковых агрегатов и их устойчивости к протеолитическим ферментам и детергентам, затрудняющим использование стандартных протеомных подходов. Наконец, вот, на этом замечания заканчиваются.

И заключение, что является законченным научным исследованием данная работа, выполнена на высоком методическом уровне, соответствует специальности. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации. Соответственно, сама диссертация полностью соответствует тем положениям ВАК, которые требуются в отношении данных докторских диссертаций. Соответственно, это в Санкт-Петербурге. Отзыв о диссертационной работе Фесенко рассмотрен и утвержден на семинаре кафедры генетики и биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Санкт-Петербургский государственный университет. Подписано доцентом кафедры генетики и биотехнологий, профессором РАН, доктором биологических наук, Антон Александрович Нижников подписал это заключение. И утверждено проректором по научной работе Санкт-Петербургского государственного университета – С.В. Микушев.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, Владимир Александрович. Игорь Александрович, в отзыве ведущей организации были вопросы. Ответьте, пожалуйста.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Да, спасибо. Я согласен с замечаниями, которые касаются опечаток и, может быть, недостаточно хорошего качества картинок. Такие технические факторы, которые трудно было предусмотреть. Что касается терминологии, здесь мы осознанно употребляли такую терминологию, потому что речь вообще не шла об обычных генах. То есть, вот те длинные некодирующие РНК, которые мы идентифицировали, можно ли их называть генами, генами с какой функцией. Мы прицельно нокаутировали с помощью системы кристасистемы CRISPR/Cas трансляцию какого-то определенного микробелка, сохраняя транскрипцию той длинной некодирующей РНК, которая у нас была. Поэтому вполне возможно, что мы могли использовать термин «нокаут гена», но не совсем понятно, относилось ли это к длинной некодирующей РНК, конкретно к этому

локусу, называется ли он геном. Это мой ответ на это замечание.

Следующее замечание, которое касается агрегатов, очень интересное. Дело в том, что мы исходили из того, вообще, многие исследователи исходят из того, что агрегация микробелков или пептидов, кодирующих, транслирующихся с коротких рамок считывания, она вообще, наоборот, нежелательна. То есть, если пептиды агрегируют, это может быть токсично для клетки и приводить к нежелательным последствиям. Поэтому в процессе эволюции такие агрегирующие пептиды, они, наоборот, должны иллюминироваться. Те микробелки с регионом низкой комплексности, которые мы видели, они были обогащены как раз гидрофобными аминокислотами, мы бы, скорее, сказали, что эти пептиды, аминокислоты мембранотропны, нежели они формируют какие-то агрегаты, которые могут быть токсичны для клетки. К сожалению, для растений не показаны вот эти амилоидные структуры гормонов, о которых говорилось в отзыве, поэтому здесь мы ничего не можем сказать, то есть, это потребует каких-то дальнейших исследований.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. На диссертационную работу поступили другие отзывы, которые сейчас Владимир Александрович озвучит.

**Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович:** *(Оглашает отзывы на автореферат. Все отзывы положительные. Отзывы прилагаются.)* Здесь поступили отзывы на автореферат. На саму диссертационную работу не было отзывов, на автореферат. Поступило три отзыва. Все отзывы положительные. Но, тем не менее, тут... В диссертационной работе Фесенко впервые представлены результаты комплексного анализа пептидома модельного растения, а именно тот мох, о котором мы сегодня слышали. Однако, очень интересно, что в отзыве есть вопросы. Хотелось бы задать несколько вопросов, которые напрашиваются при прочтении автореферата.

Первое, хотелось бы услышать, какие именно физико-химические свойства белков рассматривались в качестве критериев для отбора пептидов при изучении функциональной роли пептидов, соответственно, мха Патенс.

Второе. Известно, что нативный секретом бриофитов также обладает антимикробной активностью. Вероятно, данная активность может быть так же обусловлена пептидными молекулами, как показано в самой работе. Нативный пептидом этого мха состоит из большого разнообразия молекул. Тем самым, вероятно, существует фоновый биологически активный пул у пептидов. Не изучали ли в ходе исследования антибактериальную активность нативных внутриклеточного и секретируемого пептидомов растения.

Третье. Какова природа и происхождение нативных и стресс-индуцируемых пептидов? Можно ли четко разграничить их по механизму происхождения.

Четвертое. На рисунке 26 показана экспрессия микробелка PEPS3 в основаниях филлид растения. Хотелось бы услышать, не проводили ли анализ экспрессии микробелков с применением GUS на протеоме мха. Возможно, этот либо другие пептиды и микробелки экспрессируются в точках инициации перехода от одномерной протонемы к трехмерному гематфору при смене стадий жизненного цикла растения?

Пятое. Также, к сожалению, в автореферат не вошли некоторые вызывающие большой интерес данные, отраженные в тексте диссертации. Например, антибиотическая активность пептидов по отношению к фитопатогенным бактериям.

Но, тем не менее, наличие вопросов и данных не снижает... Соответственно, Фесенко

заслуживает, а работа достойна присуждения соответствующей степени. Подписано, старший научный сотрудник микробной и биотехнологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета, кандидат биологических наук Валеева Л.Р. Это первый с вопросами.

Теперь второй отзыв. Второй отзыв тоже положительный, подписан он заведующим лабораторией протеогеномики, доктором биологических наук, профессором РАН Машковским Сергеем Александровичем. Соответственно, опять же, встречается, что без преувеличения автор диссертации стал пионером протеомики и пептидомики модельного мохообразного листостебельного мха. В диссертации впервые описаны исследования в масштабах генома модельного вида мха. Одним из традиционных требований к докторским диссертациям, вот это, на мой взгляд, очень важно, к докторским диссертациям является развитие диссертантом нового научно-технического направления. В современной ситуации это условие выполняется далеко не всегда. Работа Фесенко представляет собой неожиданное исключение. Им, действительно, освоена ранее неизученная область знания, предложена оригинальная методология, проведены испытания множественными молекулярными методами. Основываясь на материалах автореферата, полагаю, что диссертант заслуживает присвоения ученой степени, и так далее. Кто подписал, я уже тоже зачитал.

И, наконец, третий отзыв. Автореферат написан в хорошем литературном стиле. Разработано новое научное направление, опять же, здесь звучат слова, системный анализ пептидомов растительных клеток для поиска их физиологической роли в жизни растений. Подписано, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры биохимии и биологического факультета МГУ имени Ломоносова, Клычников Олег Игоревич. Вот, собственно, все. Один был с замечаниями.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Игорь Александрович, в первом отзыве были замечания, пожалуйста, ответьте на них.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** А можно мне текст, чтобы не сбиться. Я так примерно помню. Спасибо.

Первый вопрос, который касался критериев отбора, вопросы на эту тему уже звучали, связанные с предсказанием антимикробной активности, или, в случае пептидов, кодируемых короткими рамками считывания, мы брали набор пептидов консервативных, неконсервативных, с регионом низкой комплексности, с трансмембранным доменом. То есть, на этом был основан наш выбор.

Второй вопрос касается антимикробной активности нативного секретома. Да, считается, что у бриофитов, действительно, есть такая активность. Мы не увидели в наших опытах с бактериями, которые мы использовали *Escherichia coli*, что такая активность есть без добавления фитогормонов. Возможно, при использовании каких-то других фитопатогенных бактерий, мы бы это увидели лучше. Что касается, существует ли фоновый биологически активный пул пептидов, то можем сказать, что, согласно нашим предсказаниям, примерно 3,5% пептидов секретома и около 11% пептидов клетки обладают предсказанной антимикробной активностью. Конечно, это не означает, что каждый из них антимикробный потенциал имеет. Но, тем не менее, какая-то часть пептидов, которая есть в норме, она, действительно, таким потенциалом обладает и,



действительно, может быть, какая-то антимикробная активность фоновая секретора, вот, нашего объекта и, наверняка, других растительных объектов, она может быть связана с выщеплением таких пептидов.

Природа и происхождение нативных и стресс-индуцируемых пептидов. Если имеется в виду вопрос, связанный с тем, как они образуются, то мы анализировали, как это может расщепляться, мы анализировали возможные протеазы, которые участвуют в синтезе этих белков. Происхождение пептидов и там, и там связано с апорталитической деградацией функциональных белков, поэтому можно сказать, что природа происхождения, она одинакова. Но механизм, по всей видимости, в случае стресса, это все-таки индукция специализированных протеаз. Мы видели для некоторых типов как раз активацию их активности. Мы видели, например, активацию активности протеосомы при обработке салициловой кислотой. Я просто не стал давать эти данные, поскольку очень мало времени. Тем не менее, мы видели эти вещи. Поэтому, можно сказать, что механизм связан как раз с протолиптической активностью.

Что касается экспрессии PEPS3. У основания филлид мы видим очень четкую экспрессию, но здесь нити протонемы тоже видны, в них есть какая-то фоновая экспрессия. Мы не видели того, о чем говорить, то есть, переход от трехмерной к двумерному гометафору, от двумерной протонемы к трехмерному гометафору. Насколько известно по последним работам, у мхов это регулируется пептидами. Играть ли какую-то роль здесь микробелки, пока не ясно. То, чему посвящен вопрос, была ли там какая-то точечная экспрессия, мы ее не видели в протонеме. И данные, которые не вошли в автореферат, да, к сожалению, все пришлось сильно ужимать и выбросить очень много данных.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, ответы получены. Теперь мы переходим к заслушиванию отзывов официальных оппонентов. В том порядке предлагаю, в котором они у нас в повестке дня фигурируют. Лисица Андрей Валерьевич, пожалуйста.

**Официальный оппонент, академик РАН, Лисица Андрей Валерьевич:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Уважаемый Зам. председателя, уважаемый секретарь, коллеги, что я могу сказать об этой работе. Прежде всего, она, действительно, необычна в том плане, что это первый раз в моей жизни, когда я диссертацию прочитал два раза. И совершенно не потому, что я ее не понял первый раз, как вы могли бы догадаться. Нет. На самом деле, написано очень хорошо. Написано ярким, четким, абсолютно доступным языком.

Второе – это, конечно, пептиды. Пептиды – это то, что является краеугольным камнем. Вроде бы в этой диссертации очень интересный проведен мотив, что белки как предшественники пептидов. То есть, деградом показан. И важно то, что показал диссертант, это, в частности, моделирование этой структуры, с помощью AlphaFold2 была сделана работа. То есть, было показано, что пептиды – это не случайные последовательности, как можно было бы делать из комплексности вывод. Низкая комплексность, она обычно говорит о том, что информация вырожденная. По сути дела, она отсутствует. Но результаты моделирования показывают обратное, что это структуры, которые устойчиво существуют, значит, они могут иметь функциональную значимость.

Потом антимикробное действие. Все ищут антимикробные пептиды, как Святой Грааль. Но, на самом деле, пептиды интересны тем, и автор это показывает в своей работе, что они

являются мягкими эффекторами. То есть, это не убивающее начало, это начало, которое пришло от самой природы. То есть, здесь антимикробное действие – это не действие низкомолекулярных соединений, это действие именно пептида. Как следствие, с одной стороны, это его слабость, с другой стороны, это его сила, с точки зрения, опять же, результатов, которые автор привел в своей работе.

Я хотел бы отметить крайнюю зрелость этой работы в том плане, что был использован весь арсенал методов, который можно было. Это и молекулярная биология, и биоинформатика. И вот это сочетание производит как раз из текста очень хорошее впечатление. Я не буду задавать вопросы, потому что на них уже были получены ответы, они прозвучали от публики. Я всего лишь констатирую, что и работа, и сам диссертант полностью соответствуют всем формальным требованиям. И еще раз подчеркну, все же работа написана от сердца, неформально. Всегда приятно читать.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо, Андрей Валерьевич. Здесь соискателю не на что отвечать. Я думаю, надо согласиться скромно. Следующий официальный оппонент Лось Дмитрий Анатольевич, пожалуйста.

**Официальный оппонент, член-корр. РАН, Лось Дмитрий Анатольевич:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)*

Добрый день, уважаемые коллеги. У меня отзыв на шесть страниц, но я надеюсь, что все обрадуются, если я не буду зачитывать целиком отзыв, и зачитаю только или озвучу некие замечания. Это даже не замечания, это приглашение к разговору.

Во-первых, конечно, это все ужасно. Мы только-только разобрались немножко, начинаем разбираться со вторичным метаболизмом, которого у растений много и сложно. А тут, оказывается, еще тысячи пептидов, да еще с функциональной активностью. В общем, природа, она, как бы, я не знаю, вообще, как, можно это назвать осмысленным каким-то действием, когда функциональные белки, мажорные, такие как фотосистемы 2 становятся антимикробными пептидами одновременно. Я не представляю, какой объем работы еще предстоит. Я в отзыве написал, перефразирую фразу одного гуманитарного классика, или антигуманитарного. Следует ли считать пептидом таким же неисчерпаемым, как и протеом. Хотя протеом, наверное, уже исчерпаем.

Секретом, я бы этот термин не использовал, потому что исследовалось все, что в куче там навалилось в окружающую клетку, среду. И, наверное, было бы правильным использовать экзопротеом или как-то еще, в этом, в таком плане. Мое предложение, скорее всего, наверное, эти работы будут продолжаться, потому что тут непочатый край. Функциональный анализ проведен только для очень ограниченного количества пептидов. Вот, мне кажется, что кооперация с разными специалистами из биологии растений, она была бы очень желательна. Потому что в одиночку одной группой весь объем того, что там вырисовывается, совершенно невозможно выполнить.

А так, я поддерживаю эту работу. Считаю, что она достойна вполне того, чтобы быть признанной докторской диссертацией. Спасибо большое.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо большое. Всеволод Юрьевич Макеев у нас официальный оппонент. Пожалуйста, вам слово.

**Официальный оппонент, член-корр. РАН, Макеев Всеволод Юрьевич:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Уважаемый Зам. председателя,

уважаемые члены совета, коллеги. Мне очень приятно дать отзыв на диссертационную работу Игоря Александровича Фесенко. Я тоже с большим удовольствием прочел текст. И мне больше всего понравилось то, что для одного объекта привлечено очень много разных методов, которые изучают один аспект его жизнедеятельности – пептиды, которые возникают при различных процессах из разных источников, секвенируются вовне, существуют в клетке.

И, как уже отмечалось, критерием уровня докторской диссертации раньше считалось открытие нового направления в науке. И, вот, диссертация, которую мы сейчас рассматриваем, это, действительно, редкий случай, когда она полностью удовлетворяет этому критерию. По сути, такой новый мир в работе с этим объектом. Объект тоже классический – это модельный организм, используется для большого количества разных работ. И, как уже говорилось, показано, что деградация разных функциональных имеющих вполне классическую устойчивую функцию белков приводит к формированию большого количества функциональных пептидов.

Но я бы хотел еще остановиться на второй части работы, где показана геномика. Это мне ближе по специальности. Я не масс-спектрометрист, я, скорее, вычислительный генетик. А именно предсказание новых пептидов в аннотациях либо уже существующих генов. Причем, не только генов, кодирующих белки, но и генов, кодирующих длинную некодирующую РНК. Либо это какие-то короткие новые рамки считывания, которые раньше считались нефункциональными. Диссертант очень здорово, владея методами масс-спектрометрии, по сути, осуществил прямую экспериментальную проверку того, что ему предсказывали разные компьютерные программы. И показал, что очень часто вот такие гены некодирующие область, либо открытые рамки считывания, которые возникают при сдвиге рамки считывания уже существующих белков, могут кодировать новые функциональные молекулы.

Что замечательно, для некоторых из таких молекул, в частности пептид фамос, было показано, что он является регулятором полярного роста растений, то есть, описана его полностью функция. Длинная некодирующая РНК – это относительно новый объект. Они, я говорю, у человека-то не так давно изучаются широким фронтом. А про растения, про них вообще очень мало, чего известно. И вот тут выясняется, что длинные некодирующие РНК не только могут нести самостоятельную функцию, не только могут являться предшественниками микроРНК, но еще являются носителями таких коротких рамок считывания. То есть, по сути, открылся новый уровень в аннотации полной геномов, который раньше абсолютно не был никому понятен. И, как уже замечалось, очень много работы будет.

Я бы хотел... У меня есть некоторое количество замечаний. Я сразу хочу сказать, что работа произвела на меня очень хорошее впечатление, очень здорово, что она в таком виде сделана. У меня есть небольшое количество замечаний, я их зачитаю просто для того, чтобы они... Если они есть в отзыве, пускай они будут и зачитаны.

Несмотря на высокий уровень работы, диссертация не свободна от спорных моментов, даже их недостатками обзывать трудно. При анализе данных Oxford Nanopore используется неоправданно низкий порог на качество рида, соответствующий среднему Phred значению, равному семи. Этот порог соответствует ошибке в 20% в определении буквы, то есть, каждая пятая буква ожидается как неправильно определенная при таком пороге качества. Такие риды будут вряд ли однозначно равняться на геном. Это, во-первых.

Во-вторых, на рисунке 421 мне не удалось на карте рассмотреть влияние метилжасмоната. И такое ощущение, что там просто две одинаковых панели по ошибке включены. Рисунки полностью идентичны, несмотря на то, что у них разные подписи. Наконец, автор использует дефолтные пороги при определении кодирующего потенциала. Но эти дефолтные пороги, они получены для того, чтобы избежать перепредсказания, когда вы не имеете прямой экспериментальной проверки. У автора были данные масс-спектрометрии в руках. Он мог, опираясь на эти данные, установить наиболее адекватные пороги, которые могли бы использоваться для предсказания пептидов, вообще говоря, больше их и правильно предсказать.

Про опечатки я говорить не буду. Работа имеет большой шанс стать классической, ставит много новых задач, безусловно, имеет большую научную ценность. В заключение, является законченным научно-исследовательским трудом, открывающим новое направление в анализе пептидомов растений и соответствует всем пунктам паспорта специальности по 1.5.3 – молекулярная биология. Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Игорь Александрович, в отзыве Всеволода Юрьевича прозвучал ряд замечаний. Пожалуйста, ответьте на них.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Спасибо, Всеволод Юрьевич за замечания.

Что касается первого замечания, это пороги фредскор, которые мы использовали для картирования данных нанопор. На самом деле, для нанопоры как раз и используется где-то 7-8. Ошибка в нанопоровских данных, да, где-то около 15%. Но, за счет длины рида, это более-менее, и за счет покрытия, отсутствия неких байсов при приготовлении библиотек, эта ошибка более-менее иллиминируется. То есть, этот фредскор – не совсем тот же фредскор, который используется в RNA-seq данных. И мы по количеству картирований выбрали оптимальный. На 7 было достаточно картирование, достаточно хорошее картирование. То есть, то, что нам нужно было для того, чтобы чертить границы для их некодирующих РНК, структуру хорошо предсказать и получить данные по их экспрессии.

Второй вопрос, который касается перепредсказания. Да, я с ним согласен. Здесь вопрос вот в чем, мы использовали эти методы для того, чтобы, в частности предсказание некодирующего потенциала, для того, чтобы уменьшить количество потенциальных рамок считывания, которые бы мы анализировали при масс-спектрическом анализе, потому что, если бы мы дали вообще все возможные рамки, которые есть в геноме, база была бы настолько раздутой, что были бы очень высокие FDR, мы бы просто не смогли там идентифицировать какие-то пептиды низко представленные. Поэтому мы остановились на тех настройках, которые мы использовали, просто для того, чтобы сократить пул этих пептидов. То есть, цель – полная инвентаризация всех транслирующихся там коротких рамок считывания в геноме – нами не ставилась. Во второй части работы, там, где мы использовали длинную некодирующую РНК, мы вообще ушли от предсказания кодирующего потенциала коротких рамок, поскольку здесь очень много каких-то вещей, которые могут помешать нам идентифицировать действительно интересные пептиды.

И, да, там, скорее всего, ошибка. Там клетка, при обработке метилжасмонатом, они выглядят идентично. Это просто, скорее всего, какая-то ошибка. На секретоме, там есть разница. Но мы не говорим о том, что от метилжасмоната там вообще очень сильно все менялось. Была небольшая разница. Но в клеточном, видимо, да, я полностью согласен. Я

еще раз ее полностью пересмотрел вчера. Там не найти различий.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Хотя были тут замечания насчет качества картинок. Это не с этим связано?

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Я думаю, нет. Та картинка качественная.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Понятно. Всеволод Юрьевич, вы удовлетворены ответами Игоря Александровича? Спасибо.

Уважаемые коллеги, мы теперь открываем открытую дискуссию по работе Фесенко Игоря Александровича. Кто хотел бы высказаться о работе? Николай Владимирович, пожалуйста.

**Д.х.н. Бовин Николай Владимирович:** Эта работа вызвала у меня очень любопытные ассоциации. Наверное, лет 40 назад прогремели, буквально прогремели в Соединенных Штатах работы Альбершайма по гликомике растений. Может быть, помните такие слова ключевые, как элиситоры, олигосахариды. То есть, тогда исследовались продукты деградации растительных полисахаридов, и как эти продукты деградации, небольшие участки полисахаридов регулируют жизнедеятельность растений, помогают растению бороться с вредителями этих растений, в том числе и с бактериями. Помогают стимулировать рост этих растений, и так далее, и так далее. То есть, множество тех функций, которые мы сегодня услышали для пептидов. То есть, аналогия очень близкая к тому, что было вот эти 40 лет назад с растениями.

Я к чему все это говорю? Я предлагаю Игорю Александровичу подумать, если у него будет досуг или какое-то свободное время, написать эссе и сравнить эти два подхода вместе. Может быть, получится очень любопытная работа.

В целом, я очень высоко оцениваю сегодняшний доклад, сегодняшнюю работу. И призываю всех голосовать «за».

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Коллеги, кто еще хотел бы высказаться? Хотя мы сегодня уже многое сказали. Александр Габибович.

**Академик РАН, Габибов Александр Габибович:** Да, уважаемый Роман Гербертович, Владимир Александрович. Очень приятно, действительно, было заслушать эту диссертацию. Я с большим вниманием, несмотря на то, что никогда не занимался растениями профессионально, следил за деятельностью Игоря Фесенко. К сожалению, сначала мне приходилось, в основном, это делать по долгу директора, потому что были проблемы с реформированием отдела. Но мы справились, и с помощью Ольги Анатольевны. Были, действительно, сложные времена. Но, конечно, мы сегодня говорим о науке.

И я должен признать с удовольствием, что Игорь – ученый. Я как всегда говорил, бывают ученые, бывают исследователи, научные работники. Все перечисленные мной градации хороши, нужны и важны в науке любой страны. Мне кажется, что Игорь все-таки, действительно, ученый. Со своими достоинствами и недостатками. Но приятно, что он, действительно, делает новое и старается открыть новое. Поэтому я призываю голосовать. Я не буду здесь перечислять те результаты, вы их все слышали. Но, мне кажется, действительно, его комплексный подход, потому что долгое время во времена моей молодости и чуть, может быть, позже, все-таки люди разделялись на специалистов в области белка и нуклеиновых кислот. Понятно, что это очень искусственное разделение.

Сразу же, надо сказать, что Игорь представил своей работой абсолютно правильный симбиоз того и другого. Можно говорить, как происходит деградация, можно обсуждать механизмы. Не все здесь было открыто и показано, но ясно, что тенденция очень интересная.

И, мне кажется, что... Я лично благодарен отделу биотехнологии и молекулярной биологии растений, в которой мне удалось организационно группу Фесенко влить. И я лично благодарен профессору Тальянскому, члену-корреспонденту Завриеву за то, что на начальных этапах они помогли мне организовать такую единицу. Дальше жизнь развивалась по-своему, каждый ученый имеет право на личную свободу, имеется в виду научного поиска. И, конечно, командировка Игоря в Соединенные Штаты, она тоже дала, мне кажется, очень много. Это признаю я, но я имею право на субъективную точку зрения. Я надеюсь, что Игорь сделает следующие шаги и вырастет, где бы он ни работал, в еще более квалифицированного специалиста. И действительно сможет продолжить карьеру именно ученого. Я призываю всех голосовать за эту диссертацию. Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Коллеги, больше не вижу желающих. А, вот, еще есть наши гости, спасибо.

**Хрусталева Людмил Ивановна:** Молекулярная биология, вообще заниматься ей в наше время – это настолько возбуждает. И открытия, которые буквально недавно получены, они удивляют, будоражат научное сообщество. Недавно мы все были удивлены тем, что, ага, у бактерий есть своя иммунная система. И замечательное открытие Дженнифер Дудна и Эммануэль Шарпантье – это геномное редактирование. И сегодня я слушаю доклад, работу Игоря Александровича. И мне пришли слова нашего замечательного соотечественника, Михаила Васильевича Ломоносова: «Открылась бездна звезд полна, звездам числа нет, бездне – дна». То есть, действительно, нет дна познаниям. И сколько много еще нужно нам познать.

Работа прекрасная, интересная. Может быть, это нескромно будет сказать, но я – научный руководитель его кандидатской диссертации, также его дипломного проекта. И Игорь диплом защищал уже с прекрасной статьей в журнале Генетика. Это говорит о многом. Я горжусь и радуюсь за своего ученика. Я полагаю, что ученый совет по достоинству оценит эту прекрасную работу. Спасибо.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо вам огромное за то, что вырастили, дали импульс начальный в познание нашему соискателю. Коллеги, я не вижу больше желающих выступить. Уже мы много эту очень интересную работу обсуждали, но я буквально кратко хотел бы, завершая дискуссию, еще вот о чем сказать. Неотвязно преследует сегодня мысль о том, что Вадим Тихонович Иванов, ушедший от нас, к сожалению, о котором соискатель здесь говорил теплые слова, который был научной консультантом этой работы, оставил очень благоприятный отзыв. Я думаю, он мог бы гордиться своим учеником. То, что сделал Игорь Александрович, это идеи, которые все-таки Вадим Тихонович в течение, может быть, 30 лет последних вынашивал. Он их старался распространять, обсуждать. Он был очень увлечен этой темой. И спасибо, что сегодня мы вот так вот об очень интересных, на мой взгляд, результатах, и по мнению всех выступающих коллег, говорили. Ну, эта работа достойна памяти Вадима Тихоновича. Я призываю голосовать за эту работу. На этом мы обсуждение работы заканчиваем.

Теперь, Игорь Александрович, еще раз у вас есть возможность выступить с заключительным словом перед тем, как мы перейдем к голосованию.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** Я потом еще буду кого-то благодарить?

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Нет, только уже неофициально, в кулуарах.

**Соискатель (Фесенко И.А.):** В первую очередь я бы хотел поблагодарить человека, свою жену, которая 15 июня 2005 года так же поддерживала меня на защите кандидатской диссертации. Вот, 15 июня 2022 года она поддерживает меня защите докторской диссертации, всегда поддерживала. Я прошу прощения у коллег, которые помогли мне делать эту работу, с которыми мы вместе работали, но это совсем другое.

Конечно, хочу поблагодарить всех, кто принимал участие. Александра Габибовича, который правильно здесь говорил о том, что были организационные сложности. С его помощью удалось преодолеть, и тех людей, и Вадима Марковича, в лабораторию которого я пришел. И Михаила Эммануиловича, который был руководителем лаборатории, в которой наша группа делала дальнейшие исследования. В общем, всех, кого я не упомянул, я прошу прощения. Все-таки это достаточно оказалась утомительная процедура. Всем огромное спасибо. Спасибо!

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Спасибо. Коллеги, теперь предлагается нам избрать состав счетной комиссии. Поступило предложение. В качестве председателя счетной комиссии выступает Олейников Владимир Александрович, по традиции, по нашей. Члены комиссии: Зубов Виталий Павлович и Долгих Дмитрий Александрович. Есть ли какие-нибудь возражения или отводы, самоотводы по составу счетной комиссии? Нет.

*(Проводится тайное голосование)*

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Уважаемые коллеги, прошу внимание. Пока идет подсчет голосов счетной комиссии давайте обсудим проект заключения диссертационной работы Фесенко Игоря Александровича. Заключение есть у вас, было роздано при регистрации. Есть ли у кого какие замечания, предложения по тексту? Николай Владимирович, у вас, конечно, пожалуйста.

*(Проходит обсуждение проекта заключения совета. Д.х.н. Бовин Н.В. вносит предложение по корректировке формулировок в разделе значения для практики)*

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Коллеги еще есть замечания по проекту заключения? Если замечаний нет, не вижу больше, тогда предлагаю принять проект заключения простым голосованием. Кто за то, чтобы принять, взять этот проект за основу? Против? Нет. Воздержались? Нет. Принимаем проект заключения.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Слово для оглашения результатов тайного голосования по состоявшейся сегодня защите. Владимир Александрович, огласите, пожалуйста.

**Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович:** Счетная комиссия была избрана в составе: Олейников, Долгих и Зубов Виталий Павлович. Фесенко Игорь Александрович, докторская диссертация. Роздано бюллетеней – 20, оказалось в урне – 20.

За – 20. Против – нет. Недействительных – нет.

**Зам. председателя, д.ф.-м.н. Ефремов Роман Гербертович:** Коллеги, предлагается утвердить результаты голосования. Кто за? Против? Воздержался? Нет. Принято единогласно. Поздравляем соискателя с успешной интересной защитой. Всем спасибо за участие.

Зам. председателя диссертационного совета  
доктор физ.-мат. наук



Ефремов Р.Г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор физ.-мат. наук

Олейников В.А.