

Заключение диссертационного совета

99.0.064.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, по диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 28 января 2025 г., №1

О присуждении Киселеву Константину Вадимовичу, российское гражданство, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Регуляция биосинтеза и значение стильбенов в клетках растений» по специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки) принята к защите 22 октября 2024 г., протокол №6 диссертационным советом 99.0.064.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-тия Владивостока, 159, №1108/нк от 16.11.2017 г.

Соискатель Киселев Константин Вадимович, 12 сентября 1980 года рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Криоконсервация клеток морских беспозвоночных и увеличение их пролиферативной активности» защитил в 2004 году в диссертационном совете, созданном на базе Биолого-почвенного института ДВО РАН. Работает ведущим научным сотрудником в лаборатории биотехнологии ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН с 2011 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН.

Официальные оппоненты:

Кулуев Булат Разяпович, доктор биологических наук, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории геномики растений;

Кусайкин Михаил Игоревич, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, заместитель директора по научной работе;

Дюйзен Инесса Валерьевна, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», г. Москва в своем положительном отзыве, подписанном д.б.н., проф., заведующим отделом биохимии вирусов растений НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Соловьевым Андреем Геннадьевичем, указала, что «диссертационная работа является научно-квалификационной работой, в которой исследован состав стильбенов в различных растениях (виноград, ель, сосна, трансгенный арабидопсис) и влияние стильбенов на защитные способности растений. По актуальности темы, научному уровню, теоретической и практической значимости результатов, достоверности и обоснованности научных результатов, диссертационная работа Киселева К.В. полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология

(биологические науки). Полученные результаты важны для развития фундаментальных представлений об особенностях регуляции биосинтеза вторичных метаболитов и их участия в комплексной защите растений от абиотических и биотических стрессов».

Соискатель имеет 294 опубликованных работ, из них 71 по теме диссертации, в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК опубликовано 57 статей. Работы посвящены изучению регуляции биосинтеза ценных стильбенов растений и их защитной роли против абиотических стрессов. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. 2 патента, 12 работ опубликованы в материалах всероссийских, международных конференций. В 24 работах соискатель является первым автором, в 43 – автором для корреспонденции. Авторский вклад соискателя в опубликованные в соавторстве работы составляет не менее 60%. Объем опубликованных работ по теме диссертации – 70 п.л.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. Kiselev K.V., Aleynova O.A., Grigorichuk V.P., Dubrovina A.S. Stilbene accumulation and expression of stilbene biosynthesis pathway genes in wild grapevine *Vitis amurensis* Rupr. // *Planta*. 2017. V. 245. P. 151-159.

2. Dubrovina A.S., Kiselev K.V. Regulation of stilbene biosynthesis in plants // *Planta*. 2017. V. 346. P. 597-623.

3. Kiselev K.V., Ogneva Z.V., Aleynova O.A., Suprun A.R., Ananov A.A., Nityagovsky N.N., Dubrovina A.S. Influence of the 135 bp Intron on stilbene synthase VaSTS11 transgene expression in cell cultures of grapevine and different plant generations of *Arabidopsis thaliana* // *Horticulturae*. 2023. V. 9. Article ID 513.

4. Aleynova O.A., Ogneva Z.V., Suprun A.R., Ananov A.A., Nityagovsky N.N., Beresh A.A., Dubrovina A.S., Kiselev K.V. The effect of external treatment of *Arabidopsis thaliana* with plant-derived stilbene compounds on plant resistance to abiotic stresses // *Plants*. 2024. V.13. Article ID 184.

На автореферат поступило 9 положительных отзывов из следующих организаций: Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН (д.б.н., проф., зав. лаб. биоинженерии растений Дейнеко Е.В.); Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (д.б.н., доц., зав. лаб. функциональной геномики Голденкова-Павлова И.В.); Института физиологии Коми научного центра УрО РАН (д.б.н., доц., руководитель группы биотехнологии отдела молекулярной иммунологии и биотехнологии Гюнтер Е.А.); Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН (к.б.н., ст.н.с. лаб. биохимии иммунитета растений Сорокань А.В., д.б.н., проф., гл.н.с., зав. лаб. биохимии иммунитета растений Максимов И.В.); Приморской плодово-ягодной опытной станции – филиал ФНБНУ «ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (к.с-х.н., директор станции Чебукин П.А.); Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (к.б.н., ст.н.с. лаб. растительно-микробных взаимодействий Еникеев А.Г.); 2 отзыва из Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (к.х.н., н.с. лаб. клеточных технологий Агеенко Н.В.) и (к.б.н., н.с. лаб. клеточной дифференциации Вехова Е.Е.); Государственного научного центра РФ Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (к.б.н., н.с. лаб. молекулярной диагностики Стахеев А.А.).

Отзывы с замечаниями:

к.б.н. Еникеев А.Г., СИФИБР СО РАН

«Спорным является предложение автора использовать стильбены для повышения уровня защиты с-х. культур. На сколько это целесообразно с экономической точки зрения?»

к.б.н. Стахеев А.А., ГНЦ ИБХ РАН

«Автор приводит результаты сравнительного анализа содержания стильбенов в разных растениях в разные сезоны (табл. 2, 4). При этом

указывается только время года, без упоминания конкретного времени отбора материала. Однако, как можно предположить, показатели содержания метаболитов в начале того или иного времени года, в его середине и конце могут существенно варьировать. Имело бы смысл чуть более подробно описать функциональное значение *rol*-генов, используемых для трансформации, и роль, которую они могут играть в жизни растений. Имеются редакционные замечания».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования, имеющие научные школы, способные определить научную и практическую ценность диссертации, давшие своё согласие (пп. 22,24 Положения от 24.09.2013 г., №842).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методология применения генов кальций-зависимых протеинкиназ, транскрипционных факторов и стильбен синтаз для активации биосинтеза ценных стильбенов, формирования устойчивости растений к губительному действию повышенных температур и ультрафиолета, что открывает новые возможности для прикладной биотехнологии и генетической инженерии растений;

предложена оригинальная концепция, описывающая, ранее не изученные, функции стильбенов и их предшественников в клетках растений;

доказана перспективность практического использования стильбенов и генов, кодирующих ферменты биосинтеза, для улучшения устойчивости растений к неблагоприятным условиям окружающей среды (повышенные температуры, высокие дозы ультрафиолета).

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что:

описаны молекулярно-биологические механизмы регуляции биосинтеза стильбенов в клетках растений;

определены регуляторные и функциональные гены, экспрессия которых значительно возросла, при достоверном увеличении содержания стильбенов в клетках растений;

изучены последствия сверхэкспрессии генов активаторов биосинтеза стильбенов и таким образом доказана их вовлеченность в стимуляцию накопления этих ценных соединений;

раскрыты новые механизмы влияния кальциевой сигнальной системы на регуляцию биосинтеза резвератрола и других стильбенов;

применительно к проблематике диссертации эффективно использованы современные методы молекулярной биологии, биотехнологии и генетической инженерии, что позволило достоверно изучить участие генов кальциевых сенсоров в регуляции биосинтеза стильбенов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

определены наиболее богатые естественные источники фармакологически ценных стильбенов;

представлены новые способы генетической трансформации вторичного метаболизма растений, которые позволяют оптимизировать получение стильбенов в растительных культурах клеток и растениях;

создана методическая база для повышения устойчивости растений к ряду абиотических стрессовых воздействий на основе применения стильбенов и генов, участвующих в биосинтезе стильбенов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ планирование и ход научных исследований осуществлялись в строгом соответствии с принципами проведения научных экспериментов. Методы исследования, использованные автором в работе, адекватны поставленным цели и задачам. Все результаты получены на сертифицированном оборудовании, эксперименты были повторены не менее трех раз, а трансгенные линии клеток и растений получены

минимум в трех независимых трансформациях. Таким образом, достигнута высокая степень воспроизводимости;

теоретическая схема функционирования стильбенов в клетках растений, представленная диссертантом, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

использованы современные широко известные методы анализа содержания вторичных метаболитов и экспрессии генов, проведено их сравнение с ранее опубликованными данными. Экспериментальные данные анализировались с использованием современных методов статистической обработки, и при небольших выборках и экспериментах использовали спаренный критерий Стьюдента (t-тест), а при широкомасштабных экспериментах – многофакторный дисперсный анализ (ANOVA).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования. Основные результаты получены лично автором, либо под его непосредственным руководством. Автор осуществлял планирование и проведение экспериментов, анализ результатов и подготовку данных для публикации в реферируемых изданиях. Первые химические анализы стильбенов были выполнены совместно с сотрудниками лаборатории химии природных хиноидных соединений Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН к.х.н. Веселовой М.В., д.х.н. Федоревым С.А. и сотрудником лаборатории лекарственных растений ФГБУН ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН к.б.н. Маняхиным А.Ю. Дальнейшие анализы содержания стильбенов в опытных образцах, как и прочие методы и подходы, были выполнены в лаборатории биотехнологии ФГБУН ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН под непосредственным руководством Киселева К.В.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения учёных степеней, п. 9, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. В докладе следует подробнее перечислить критерии стрессового воздействия на экспериментальные растения, которые были проанализированы в работе.

2. Необходимо однозначно указывать параметры ультрафиолетового излучения, которые соискатель использовал в своей работе, а так же стоило подробнее остановиться на данных анализа содержания полимерных форм стильбенов.

3. В докладе следовало упомянуть роль эпигенетических факторов в регуляции биосинтеза стильбенов.

Соискатель Киселев К.В. ответил на все вопросы, привел собственную аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласился с критическими замечаниями.

На заседании 28 января 2025 г. диссертационный совет принял решение за разработку теоретических положений, совокупность которых можно квалифицировать, как научное достижение по биотехнологии получения и применения ценных вторичных метаболитов растений присудить Киселеву К.В. ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности биотехнология, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 15, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета,
академик РАН

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н.

29.01.2025



Журавлев Юрий Николаевич

Тюнин Алексей Петрович