

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 05.06.2019 г. № 10

о присуждении Конькову Андрею Сергеевичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Создание пористых матриц из регенерированного фиброина шелка *Bombyx mori* для восстановления костной ткани» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 11.03.2019 г., протокол № 5 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании №714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Коньков Андрей Сергеевич 1984 г. рождения, в 2007 г. окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Правительства Российской Федерации по специальности «генетика», работает старшим научным сотрудником в Автономной некоммерческой организации «Научно-просветительский центр палеоэтнологических исследований».

Диссертация выполнена на кафедре биоинженерии Биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного

учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Правительства Российской Федерации.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Гончаренко Анна Владимировна, Институт биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», отдел медицинской микробиологии, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Вейко Наталья Николаевна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, лаборатория молекулярной биологии, главный научный сотрудник

Матвеева Ирина Николаевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел молекулярной биологии и вирусологии, заведующая

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов, в своем положительном заключении, подписанном Киричуком Вячеславом Федоровичем, доктором медицинских наук, профессором, Заслуженным деятелем науки РФ, кафедра нормальной физиологии, заведующий кафедры, и Ивановым Алексеем Николаевичем, доктором медицинских наук, доцентом, Центральная научно-исследовательская лаборатория, заведующий, указала, что диссертация Конькова Андрея Сергеевича «Создание пористых матриц из регенерированного фиброина шелка *Bombyx mori* для восстановления костной ткани» является законченной научно-квалификационной работой, в которой

содержится новое решение актуальной задачи по модернизации технологии создания трехмерных матриц для стимуляции регенерации костной ткани. По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация «Создание пористых матриц из регенерированного фиброина шелка *Bombyx mori* для восстановления костной ткани» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, согласно пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановления Правительства РФ № 1168 от 01.10.2018 г.), а ее автор - Коньков Андрей Сергеевич достоин присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет **14** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **9** работ, в том числе в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки РФ – **7** статей, **2** работы, опубликованные в материалах международных конференций. Авторский вклад в опубликованных работах составляет **75 %**, объем работ – **2,3** п. л.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Коньков, А.С. Биосовместимые материалы из регенерированного шелка для тканевой инженерии и лекарственной терапии / **А.С. Коньков**, О.Л. Пустовалова, И.И. Агапов // **Биотехнология**. – 2010. – №.1. – С. 9-16. Impact Factor = 0,496, **Цит. РИНЦ – 7.**

2. Агапов, И.И. Биodeградируемые матрицы из регенерированного шелка *Bombix mori* / И.И. Агапов, М.М. Мойсенович, Т.В. Васильева, О.Л. Пустовалова, **А.С. Коньков**, А.Ю. Архипова, О.С. Соколова, В.Г. Богуш, В.И. Севастьянов // **Докл. Акад. Наук**. – 2010.–Т. 433. – С. 1–4. Impact Factor=1,035, **Цит. РИНЦ–9.**

3. Агапов, И.И. Биокomпозитные матрицы из фиброина шелка и наногидроксиапатита для регенерации костной ткани / И.И. Агапов, М.М. Мойсенович, Т.В. Дружинина, Я.А. Каменчук, К.В. Трофимов, Т.В. Васильева,

А.С. Коньков, А.Ю. Архипова, В.В. Гузеев, М.П. Кирпичников // **Докл. Акад. Наук.** – 2011. – Т. 440. – С. 228-230. Impact Factor = 1,035, Цит. РИНЦ – 1, Цит. Scopus – 7.

4. Котлярова, М.С. Индукция остеогенной дифференцировки остеобластоподобных клеток mg-63 при культивировании в трехмерных условиях на фиброиновых микроносителях / М.С. Котлярова, В.А. Жуйков, Ю.В. Чудинова, Д.Д. Хайдапова, А.М. Мойсенович, **А.С. Коньков**, Л.А. Сафонова, М.М. Боброва, А.Ю. Архипова, А.В. Гончаренко, К.В. Шайтан // **Вестн. Моск. Универ. Серия 16: Биология.** – 2016. – № 4. – С. 34–40. Impact Factor = 0,615.

5. Гончаренко, А.В. Изменение морфологии актиновых филаментов и экспрессии щелочной фосфатазы при трехмерном культивировании остеобластоподобных клеток mg-63 на минерализованных фиброиновых микроносителях / А.В. Гончаренко, Н.В. Малюченко, А.М. Мойсенович, М.С. Котлярова, А.Ю. Архипова, **А.С. Коньков**, И.И. Агапов, А.В. Молочков, М.М. Мойсенович, М.П. Кирпичников // **Докл. Акад. Наук.** – 2016. – Т. 470, № 6. – С. 1–4. Impact Factor = 1,035, Цит. РИНЦ – 3, Цит. Scopus – 4.

6. Котлярова, М.С. Биорезорбируемые скаффолды на основе фиброина для регенерации костной ткани / М.С. Котлярова, А.Ю. Архипова, А.М. Мойсенович, Д.А. Куликов, А.В. Куликов, **А.С. Коньков**, М.А. Бобров, И.И. Агапов, М.М. Мойсенович, А.В. Молочков, А.В. Гончаренко, К.В. Шайтан // **Вестн. Моск. Универ. Серия 16: Биология.** – 2017. – Т. 72, № 4. – С. 222–228. Impact Factor = 0,615.

7. Гончаренко, А.В. Остеогенная дифференцировка мезенхимальных стволовых клеток на фиброиновых микроносителях / А.В. Гончаренко, М.С. Котлярова, А.М. Мойсенович, А.Ю. Архипова, **А.С. Коньков**, М.М. Мойсенович, М.П. Кирпичников // **Докл. Акад. Наук.** – 2017. – Т. 477, № 1. – С. 1–4. Impact Factor = 1,035.

На диссертацию и автореферат поступили 5 положительных отзывов без замечаний от: (1) д-ра мед. наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ **Ткаченко Александра Георгиевича**, заведующего лабораторией адаптации

микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук - филиала Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь; (2) д-ра биол. наук **Игнатова Сергея Георгиевича**, главного научного сотрудника лаборатории нанобиотехнологии Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск; (3) канд. мед. наук **Петерсен Елены Владимировны**, руководителя группы автоматизации биологических процессов лаборатории волновых процессов и систем управления Московского физико-технического института (национального исследовательского университета), главного научного сотрудника, г. Долгопрудный; (4) канд. биол. наук **Кулемина Николая Александровича**, научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики человека Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, г. Москва; (5) канд. хим. наук **Смольской Светланы Владимировны**, научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики человека Института молекулярной медицины Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, г. Москва.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор биологических наук **Вейко Наталья Николаевна** является компетентным специалистом в сфере клеточной биологии и молекулярной биологии, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Конькова А.С. (**Oxid. Med. Cell Longev.** 2019. – V. 2019. – P. 2348165; 2018. - V. 2018. – P. 1052413; 2016. – V. 2016. – P. 9895245; 2015. – V. 2015. – P. 782123; **Plos One** - 2018. - V. 13, № 1. - P. e0189826; **Морфология.** – 2018. – Т. 53, № 3. – С. 145-146; **Adv. Exp. Med. Biol.** – 2016. – V. 924. – P. 109-112, P. 127-131);

доктор биологических наук, профессор, Лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники **Матвеева Ирина Николаевна** является признанным специалистом в области молекулярной микробиологии и биотехнологии и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Конькова А.С. (**Вет. Кормл.** - 2018. - № 6. - С. 11-13; **Технол. Жив.**

Сист. - 2016. - Т. 13. № 1. - С. 83-86; 2016. - Т. 13. № 3. - С. 61-65; **Вестн. Рос. С.х. Науки.** - 2016. - № 1. - С. 55-58; 2014. - № 4. - С. 53-54; **Вестн. Курской Гос. С.х. Акад.** - 2015. - № 6. - С. 64-65; **Ветер. Зоотех. Биотехнол.** - 2015. - № 7. - С. 46-48).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области стимуляции регенерации костной ткани, конструировании скаффолдов и матриц для тканевой инженерии, а также наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Конькова А.С. (**Бюлл. Эксп. Биол. Мед.** - 2019. - Т.13, № 3. - С.61-65; **Цитол.** - 2019. - Т.61, № 1. - С.16-34; 2015. - Т.57. № 4. - С.286-293; **Mater. Sci. Eng.** - 2018 - V.85. - P.57-67; **Сарат. Науч.-Мед. Журн.** - 2018. - Т.14, № 1. - С.35-41; **Sci. Rep.** - 2017. - V.7, № 1, P.16819; **Тромб. Гемос. Реол.** - 2016. - № 3 (67). - С.178-179; **Совр. Пробл. Науки Образ.** - 2016. - № 4. –С.15; 2016. - № 5. – С.61; **Рег. Кров. Циркул.** - 2015. - Т.14, № 2 - С.70-75; **Морфол.** - 2015. - Т.147, № 1. - С.63-69).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая технология создания прототипа костного имплантата на основе фиброина шелка *Bombyx mori* в форме трехмерного матрикса для лечения травм опорно-двигательного аппарата;

предложена методика создания трехмерных микроносителей, которые можно рассматривать как альтернативу матриксам;

доказано, что созданные на основе разработанной технологии трехмерные матриксы ускоряли регенерацию костной ткани; использование матриксов не требовало последующего извлечения материала имплантата из зоны повреждения после восстановления утраченной кости, что обеспечивалось активацией тканеобразования *de novo*. Матриксы и микроносители поддерживали пролиферацию широкого круга эукариотических клеток, а микроносители дополнительно стимулировали дифференцировку клеток в остеогенном направлении;

введено в научно-исследовательскую практику новое направление модификации тканеинженерных конструкций – трехмерных микроносителей, представляющих фракцию взвешенных частиц размером 100-250 мкм, которые

удобны для использования при локализованной доставке клеток-предшественников и минимизации клеточного стресса.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что имплантаты на основе фиброина поддерживают адгезию и пролиферацию фибробластов линии NIH 3T3, остеобласт-подобных клеток MG-63 и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток; продемонстрирована биосовместимость матриксов при подкожных имплантационных тестах; установлено что минерализация фиброиновых матриксов гидроксиапатитом повышает остеоиндуктивные свойства имплантов;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе физико-химические методы оценки проницаемости, измерение модуля Юнга на реометре, измерение скорости деградации матриксов в фосфатно-солевом буфере и реактиве Фэнтона, культивирование разных типов эукариотических клеток и изучение перестройки цитоскелета, электронная, световая и конфокальная микроскопия, оценка изменения экспрессии щелочной фосфатазы, эксперименты на модели подкожной имплантации мышам и костной имплантации крысам, гистологические и рентгенотомографические методы, статистические методы оценки достоверности результатов, использующие критерии Тьюки и Краскела-Уоллиса в программном пакет OriginLab;

изложены условия создания трехмерного фиброинового матрикса и создания композитного минерализованного матрикса, изготовления на основе неминерализованного матрикса трехмерных микроносителей и создания минерализованных микроносителей;

раскрыты важные моменты технологии: главная роль фиброина в ускорении пролиферации клеток и регенерации костной ткани; возможность дополнительного улучшения свойств пролиферативных и регенеративных свойств фиброиновых матриксов за счет внесения гидроксиапатита; свойство трехмерных микроносителей инициировать дифференцировку в остеогенном направлении;

изучены процессы пролиферации и дифференцировки разных типов эукариотических клеток на поверхности фиброиновых микроносителей и матриксов, костеобразование *de novo* в зоне травмы при введении минерализованных и неминерализованных матриксов;

проведена модернизация технологии создания матриксов из фиброина шелка для восстановления костной ткани, обеспечивающая упрощение технологического процесса, возможность его стандартизации, направленная на повышение степени очистки шелка и уменьшение количества токсичных реагентов, используемых при изготовлении фиброиновых матриксов.

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

разработан и внедрён метод получения биodeградируемых трехмерных матриксов из фиброина и композитных матриксов из фиброина и гидроксиапатита для разработки тканеинженерных конструкций, предназначенных для замещения костной ткани при биомедицинских исследованиях, применение которых важно для решения задач регенеративной медицины и может быть использовано при создании изделий медицинского назначения (Акт внедрения результатов диссертационного исследования Общества с ограниченной ответственностью «СНОТРА» / SNOTRA LLC., Инновационный центр «Сколково», от 28.01.2019 г.);

определены оптимальные методические подходы для создания качественного прототипа костного имплантата, выявлены возможности дальнейшего совершенствования отработанной технологии;

создана новая технология изготовления скаффолдов для восстановления костной ткани: трехмерных матриксов и микроносителей из фиброина шелка;

представлены методические рекомендации для применения нового эффективного подхода для регенерации кости.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты получены на сертифицированном оборудовании, воспроизводимость результатов проверена в различных условиях с необходимым количеством повторов;

идея диссертационного исследования об оптимальных качествах фиброина для создания качественного прообраза костного имплантата при необходимости модификации существующих технологий опирается на анализ данных из публикаций ведущих исследовательских групп, обобщение и анализ современного опыта по использованию биоматериалов в восстановительной медицине;

установлено частичное совпадение полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными зарубежных авторов – в части возможности применения фиброина для восполнения утраченной костной ткани, вместе с тем, существующая технология была существенно переработана, и созданные матрицы лишены некоторых недостатков фиброиновых аналогов, например, возможности появления нерегулярных структур;

использованы современные методы оценки пролиферации, адгезии клеток, биостабильности матриц, оценки их механических свойств; тесты на биосовместимость и восстановления костной ткани; статистической обработки экспериментальных данных.

Личный вклад соискателя состоит в проведении автором лично следующих этапов работы: анализ научной литературы, разработка технологии создания трехмерных матриц и микроносителей из фиброина, оценка скорости деградации матриц с помощью культивирования эукариотических клеток на поверхности матриц и микроносителей, оценка адгезии и пролиферации эукариотических клеток с помощью конфокальной и электронной микроскопии, оценка способности фиброиновых микроносителей поддерживать дифференцировку клеток в остеогенном направлении с помощью оценки экспрессии щелочной фосфатазы с индукцией и без индукции дексаметазоном, наблюдения за перестройкой цитоскелета при адгезии клеток на поверхности микроносителей, оценка биосовместимости в экспериментах *in vivo* при

подкожной имплантации и регенерация костной ткани с помощью гистологических и рентгеномографических методов, анализ материала, извлеченного из зоны травмы, статистическая обработка результатов, подготовка материалов для публикации.

На заседании 05.07.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Конькову А.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **15** человек, из них **6** докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из **21** человек, входящих в состав совета, проголосовали: за **15** против **нет**, недействительных бюллетеней **нет**.

Председатель
диссертационного совета _____ (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета _____ (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 05.07.2019 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.

