

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.027.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ» ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № ____

решение диссертационного совета от 24 декабря 2015 г., № 5

О присуждении Бартову Михаилу Сергеевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Новые биотехнологические подходы к созданию остеоиндуктивных материалов на основе белка rhBMP-2, полученного микробиологическим синтезом в *Escherichia coli*» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 21.10.2015, протокол №2 диссертационным советом Д 006.027.01 на базе Федерального Государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» по адресу 127550, Москва, Тимирязевская, 42 (Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации № 714/нк от 2 ноября 2012 г. о продлении полномочий диссертационного совета).

Соискатель Бартов Михаил Сергеевич, 1988 года рождения, в 2010 году окончил Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина». В 2010 г. Бартов Михаил Сергеевич поступил в очную аспирантуру Федерального Государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.

Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ по специальности 03.02.03 – микробиология, которую успешно закончил в 2014 г. С 2010 г. и по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России).

Диссертация выполнена в лаборатории биологически активных наноструктур ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (после реорганизации в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации №220 от 17 мая 2014 г. – в Федеральном Государственном бюджетном учреждении «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России).

Научный руководитель – доктор биологических наук Карягина-Жулина Анна Станиславовна, главный научный сотрудник лаборатории биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

1) Патрушев Лев Иванович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской Академии наук, ФАНО России;

2) Самойленко Владимир Александрович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий центром экспериментальной

биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской Академии наук, ФАНО России

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» (ФГБНУ ВНИТИБП), ФАНО России (Московская область, пос. Биокомбината) в своем положительном заключении, подписанном Светланой Владимировной Кузнецовой, доктором биологических наук, профессором, ведущим научным сотрудником отдела молекулярной биологии и вирусологии ФГБНУ ВНИТИБП, указала, что диссертационная работа Бартова Михаила Сергеевича «Новые биотехнологические подходы к созданию остеоиндуктивных материалов на основе белка rhBMP-2, полученного микробиологическим синтезом в *Escherichia coli*» соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, а её автор Бартов Михаил Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 7 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях 6 работ.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. Горская, Ю.Ф. Влияние BMP-2 на численность и остеогенные свойства мультипотентных стромальных клеток и экспрессию генов цитокинов в первичных культурах клеток костного мозга и селезенки мышей СВА, иммунизированных бактериальными антигенами / Ю.Ф. Горская, Т.А. Данилова, М.В. Мезенцева, И.М. Шаповал, Т.М. Грунина, М.С. Бартов, А.С.

Карягина, В.Г. Лунин, Р.К. Чайлахян, А.И. Куралесова, Ю.В. Герасимов, В.Г. Нестеренко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155. – № 5. – С. 602–606.

2. Громов, А.В. Разработка методики получения остеопластического материала на основе деминерализованного костного матрикса с максимальным содержанием нативных факторов роста костной ткани / А.В. Громов, К.Е. Никитин, Т.А. Карпова, В.В. Зайцев, Е.И. Сидорова, Е.В. Андреева, М.С. Бартов, Д.М. Мишина, М.Е. Субботина, Н.В. Шевлягина, М.А. Сергиенков, Л.А. Соболева, А.П. Котнова, Н.Е. Шарапова, А.С. Семихин, Л.В. Диденко, А.С. Карягина, В.Г. Лунин // Биотехнология. – 2012. – № 5. – С. 66–75.

3. Федорова, М.З. Экспериментальная оценка композиционного материала на основе белково-минеральных компонентов и рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 в качестве покрытия титановых имплантатов / М.З. Федорова, С.В. Надеждин, А.С. Семихин, М.А. Лазебная, Г.В. Храмов, Ю.Р. Колобов, А.В. Громов, М.С. Бартов, В.Г. Лунин, А.С. Карягина, Д.В. Гундеров // Травматология и ортопедия России. – 2011. – № 2 (60). – С.101–106.

4. Лунин В.Г., Громов А.В., Карягина-Жулина А.С., Ершова А.С., Лаврова Н.В., Семихин А.С., Соболева Л.А., Овечкина Т.А., Субботина М.Е., Грунина Т.М., Мишина Д.М., Котнова А.П., Никитин К.Е., Бартов М.С., Гинцбург А.Л., Шарапова Н.Е. Способ получения деминерализованного костного матрикса в виде крошки. Заявка на патент РФ №2011108938 от 10.03.2011 г. Патент РФ №2456003 от 20 июля 2012 года. Опубликовано 20.07.2012. Бюл. № 20.

5. Шарапова Н.Е., Котнова А.П., Сергиенко О.В. Галушкина З. М., Полетаева Н. Н., Лаврова Н.В., Грунина Т.М., Ляшук А.М., Семихин А.С., Громов А.В., Бартов М.С., Субботина М.Е., Карпова Т.А., Ершова А.С., Лунин В.Г., Карягина-Жулина А.С., Гинцбург А.Л. Рекомбинантная плазида, рекомбинантный штамм, рекомбинантный белок BMP-2 и способ

выделения рекомбинантного белка в димерной форме. Патент на изобретение №2499048. Заявка 2012140616/10 от 24.09.2012. Опубликовано: 20.11.2013. Бюл. №32.

На диссертацию и автореферат поступило 6 отзывов. Все отзывы положительные. Авторы отмечают актуальность и научную новизну, высокий методический уровень работы, теоретическую и практическую значимость полученных результатов. Все авторы отмечают, что диссертационная работа отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Бартов Михаил Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Отзывы поступили от:

1. ведущего научного сотрудника Института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения (Российский кардиологический научно-производственный комплекс Министерства здравоохранения Российской Федерации), кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника Домогатского Сергея Петровича. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

2. заведующего лабораторией биотехнологии ЗАО Научно-производственная компания «Комбиотех», кандидата биологических наук, Крымского Михаила Александровича. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

3. научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики дрозофилы Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена РАН, кандидата биологических наук, Костюченко Маргариты Владимировны. Отзыв положительный, содержит небольшие замечания к автореферату о не вполне удачном выборе масштаба рисунков 5 и 10, и указании скорости центрифугирования на странице 9 в оборотах в минуту вместо общеупотребимой единицы измерения g.

4. ведущего научного сотрудника группы остеопластических имплантатов Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Центральный научно-исследовательский институт Травматологии и Ортопедии имени Н.Н. Приорова» министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидата медицинских наук, Зайцева Владимира Валентиновича. Отзыв положительный, содержит указание на 1 недостаток диссертационной работы, а именно отсутствие данных сравнения активности получаемого автором остеопластического материала и его аналога «INFUSE Bone Graft».

5. научного сотрудника лаборатории регуляции внутриклеточного протеолиза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, кандидата биологических наук, Карпова Дмитрия Сергеевича. Отзыв положительный, содержит пожелание о проведении в будущем исследования биологической активности выделенного по предлагаемой схеме димера rhBMP-2 не только на клетках, но и на апробированных моделях животных.

6. заведующего лабораторией вирусов микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Российской академии наук, доктора биологических наук, Летарова Андрея Викторовича. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью и достижениями в биотехнологической отрасли науки. Данные специалисты способны в полной мере оценить научную и практическую ценность диссертационной работы на основании их публикаций (<http://www.vniisb.ru/ru/news/22782.html>).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан способ получения остеоиндуктивных остеопластических материалов на основе деминерализованного костного матрикса, в том числе,

содержащих иммобилизованный рекомбинантный костный морфогенетический белок 2 человека (rhBMP-2); новый биотехнологический подход для обогащения препаратов rhBMP-2 биологически активной димерной формой белка с помощью аффинной хроматографии на целлюлозном сорбенте с иммобилизованным рекомбинантным белком BMPRIA-CBD.

получен новый штамм *E. coli* M15 [pREP4, pBMPRIA-CBD], обеспечивающий продукцию рекомбинантного химерного белка BMPRIA-CBD, состоящего из рецептора BMPRIA фактора роста костной ткани BMP-2, соединенного с целлюлозосвязывающим доменом из *Caldicellulosiruptor bescii*;

доказаны остеоиндуктивные, остеointегративные и ангиогенные свойства разработанных материалов при применении их в самостоятельном виде и в сочетании с металлоконструкциями из титана; подтверждена биологическая активность очищенных по разработанной методике препаратов rhBMP-2 в культуре клеток C2C12 и культурах МСК костного мозга и селезенки мышей.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс биотехнологических и микробиологических методов для получения высокоэффективного штамма-продуцента BMPRIA-CBD, современные инструментальные методы исследования биологической активности остеопластических биоматериалов;

изложены этапы получения остеопластических материалов из деминерализованного костного матрикса с добавлением rhBMP-2 и без него;

изучен процесс репарации костной ткани под действием ростового фактора rhBMP-2, а также влияние на данный процесс обогащенной тромбоцитами плазмы крови;

проведена адаптация условий культивирования микробиологического штамма-продуцента для повышения выхода BMPRIA-CBD, адаптация

моделей исследования регенеративного потенциала остеопластических материалов на лабораторных животных.

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

разработан и запатентован способ получения остеоиндуктивных материалов российского производства из деминерализованного костного матрикса, содержащих rhBMP-2;

доказаны остеоиндуктивные, остеointегративные и ангиогенные свойства разработанных материалов при применении в самостоятельном виде и в сочетании с титановыми матрицами.

разработан и запатентован новый биотехнологический подход для выделения rhBMP-2 с помощью его рецептора, иммобилизованного на хроматографическом носителе, обеспечивающий получение препарата белка в биологически активной димерной форме высокой степени чистоты;

доказана повышенная удельная биологическая активность выделенного по предложенной методике белка на культурах клеток;

представлены результаты, которые могут являться прикладной основой для внедрения в производство в качестве финальной стадии очистки препаратов rhBMP-2.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

исследование выполнено на высоком современном уровне, определяется значительным объемом экспериментального материала, применением адекватных приемов обработки и анализа полученных данных;

теоретическое предположение об использовании иммобилизованного рецептора BMP-2 в качестве аффинного сорбента построено на основе данных исследований молекулярного механизма действия BMP и технологии аффинных доменов;

идея базируется на широком спектре современных литературных данных по тематике диссертации, как отечественных, так и зарубежных;

использованы разнообразные современные материалы и методы исследования; критерии, выбранные для оценки, позволяют в полной мере описать взаимосвязи изучаемых явлений;

установлено отсутствие в диссертационной работе заимствованного материала без указания ссылок на их авторов.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, анализе полученных данных и представлении результатов для их публикации, оформлении текста диссертации и автореферата. Значительная часть экспериментальной работы выполнена соискателем самостоятельно. Соискатель непосредственно участвовал в получении остеоиндуктивных материалов на основе ДКМ без rhBMP-2 и с его добавлением, в планировании состава плазмиды pBMPRIA-CBD, получении микробиологического штамма-продуцента белка BMPRIA-CBD и оптимизации условий его культивирования. Адаптация экспериментальных моделей *in vivo* для дальнейшего исследования эффективности регенерации костной ткани при применении разработанных остеоиндуктивных материалов выполнена соискателем лично, включая самостоятельное проведение на животных всех стандартных операционных процедур, в том числе хирургических операций по имплантации материалов. Соискатель самостоятельно выполнял исследование регенерации костной ткани методами рентгенографии и микрокомпьютерной томографии, проводил обработку и интерпретацию экспериментальных данных. Подготовку основных публикаций по выполненной работе соискатель проводил совместно с научным руководителем диссертационной работы.

На заседании 24 декабря 2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Бартову М.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 12 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в

заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 13,
против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета

Ученый секретарь
диссертационного совета



П.Н. Харченко

М.Р. Халилуев

25 декабря 2015 г.