

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.013.01**  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР ЖИВОТНОВОДСТВА – ВИЖ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Л.К.  
ЭРНСТА» МИНОБРНАУКИ РОССИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ  
НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 16 марта 2021 г. № 04

О присуждении Чистяковой Ирэне Валерьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биоиндикаторы криорезистентности ооцит-кумулюсных комплексов *Bos Taurus* и *Sus scrofa domesticus*», в виде рукописи, по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), принята к защите 28.12.2020 года, протокол № 50 диссертационным советом Д 006.013.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства - ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» Минобрнауки России (142132 Московская область, г. Подольск, п. Дубровицы, д.60, утв. приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г.).

Соискатель Чистякова Ирэна Валерьевна 1994 года рождения, в 2016 году окончила ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по специальности ветеринария.

С 1 октября 2016 года по 30 сентября 2019 года являлась аспирантом очной формы обучения Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста».

С июля 2017 год по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории биологии развития во Всероссийском научно-исследовательском институте генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиале ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л. К. Эрнста.

Диссертация выполнена в лаборатории биологии развития во Всероссийском научно-исследовательском институте генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиале ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л. К. Эрнста.

Научный руководитель - доктор биологических наук (03.01.06), профессор, работает в должности заведующего лабораторией биологии развития во Всероссийском научно-исследовательском институте генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиале ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л. К. Эрнста.

**Официальные оппоненты:**

- Савченкова Ирина Петровна, доктор биологических наук (03.01.06), профессор ФГБНУ «Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН», главный научный сотрудник, заведующая;
- Амстиславский Сергей Яковлевич, доктор биологических наук (03.02.04) ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской Академии наук», сектор криоконсервации и репродуктивных технологий, главный научный сотрудник.

**- дали положительные отзывы на диссертацию.**

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (109472 Москва, ул. акад. Скрябина, 23) в своем

**положительном заключении**, подписанном Девришовым Давудаем Абдулсемедовичем, заведующим кафедрой иммунологии и биотехнологии, доктором биологических наук, профессором, членом-корреспондентом РАН отметили, что диссертационная работа Чистяковой И.В. по объему выполненных исследований, глубине анализа, новизне, научной и практической ценности выводов и предложений производству соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а автор диссертационной работы – Чистякова Ирэна Валерьевна - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) Соискатель имеет 8 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 8 научных работ, опубликованных в виде статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России – 4, 1 – в журнале, индексируемом в базе Scopus. Общий объем опубликованных работ по теме диссертации – 97 страниц. Личный вклад соискателя составляет 67 %.

Наиболее значительные работы:

1. Кузьмина Т.И. Модификация этапов технологии витрификации ооцитов *Bos taurus* / Т.И. Кузьмина, И.В. Чистякова, И.П. Шейко, А.И. Ганджа //Таврический вестник аграрной науки. 2017. № 3 (11). С. 80-87.
2. Кузьмина Т.И. Воздействие нВДК на статус хроматина соматических клеток фолликулов свиней / Т.И. Кузьмина, И.В. Чистякова, Д.А. Новичкова, О.А Епишко // Ветеринария. 2017. №2. С. 43-45.
3. Кузьмина Т.И. Влияние нВДК на апоптоз в нативных и девитрифицированных клетках гранулёзы / Т.И. Кузьмина, И.В. Чистякова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2019. №3 (43). С. 8-12
4. Кузьмина Т.И. Влияние нВДК на функциональную активность митохондрий и статус хроматина нативных и девитрифицированных ооцитов *Bos taurus* при культивировании *in vitro* / Т.И. Кузьмина, И.В. Чистякова, Д.Н. Татарская // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. №.4. С. 784-793.
5. Чистякова И.В., Кузьмина Т.И. Витрификация ооцитов коров (*Bos taurus*). Материалы 18-ой Всероссийской конференции молодых учёных:

«Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии». Москва. 2018. С. 234-236.

В опубликованных работах отражены основные результаты исследований соискателя, обосновывающие эффективность использования биоиндикаторов криорезистентности ооцитов сельскохозяйственных животных для модернизации технологии витрификации женских гамет и применения предварительной инкубации ооцитов (до витрификации) в жидкости фолликулов малого диаметра и наночастиц ВДК в концентрации 0,001% в составе криопротекторных сред для повышения показателей созревания и оплодотворения ооцит-кумулюсных комплексов после размораживания.

На автореферат диссертации поступило 8 положительных отзывов:

Гродненский ГАУ (канд. с.-х. наук Епишко О.А.); Казахский национальный аграрный университет (д-р ветеринар. наук Джуланов М.Н., канд. биол. наук Усенбеков Е.С.); Санкт-Петербургский государственный аграрный университет (канд. биол. наук, доцент Брагинец С.А., канд. биол. наук, доцент Позднякова Т.Э.); ВНИИ коневодства (д-р с.-х. наук Лебедева Л.Ф.); Самарский ГАУ (д-р биол. наук, профессор Баймишев Х.Б.); Санкт-Петербургская военная академия (д-р биол. наук, профессор Кравцов В.Ю.); Сколково, ООО «Криопротект» (д-р биол. наук Ли Н.Г.); Витебская академия ветеринарной медицины (д-р ветеринар. наук, профессор Кузьмич Р.Г.).

В отзывах ВНИИ коневодства, Витебской академии ветеринарной медицины имеются вопросы по нумерации таблиц, степени практических предложений для повышения оплодотворяемости коров согласно параметров криорезистентности ооцитов, степени коммертизации результатов диссертационных исследований, перспективам в этой области.

Во всех отзывах отмечается актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационной работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они известны своими достижениями в области

биотехнологии и имеют научные публикации по данной тематике, что позволяет им дать объективную оценку диссертационной работе.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработаны** протоколы витрификации ооцитов и соматических клеток овариальных фолликулов (клеток гранулёзы) *Bos taurus taurus L.* с использованием превентивной инкубации ооцитов в жидкости фолликулов менее 3 мм и наночастиц высокодисперсного кремнезёма (нВДК) в концентрации 0,001%.

**предложены:** биомаркеры криорезистентности ооцитов *Bos taurus taurus L.* (функциональный статус ооцита) и *Sus scrofa domesticus L.* (функциональная активность фермента глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Г6ФДГ), содержание депонированного кальция); протоколы витрификации ооцитов *Bos taurus taurus L.* из фолликулов диаметром 3-6 мм, завершивших фазу роста *in vivo*, с использованием превентивной инкубации ооцитов в жидкости фолликулов менее 3 мм; протоколы витрификации ооцит-кумулюсных комплексов и соматических клеток овариальных фолликулов *Bos taurus taurus L.* (клеток гранулёзы) с использованием нВДК в концентрации 0,001%.

**доказаны:** влияние витрификации на мейотическое преобразование хромосом ооцитов, способность более 50% кумулюсных клеток девитрифицированных ооцитов к последующей пролиферации в процессе культивирования; высокая криорезистентность завершивших фазу роста *in vivo* ооцитов, выделенных из фолликулов диаметром 3-6 мм, определяющая их дальнейшую компетентность к созреванию и эмбриональному развитию по сравнению с ооцитами, завершившими фазу роста *in vitro*; положительное влияние преинкубации ооцитов (до витрификации) в жидкости фолликулов малого диаметра (до 3 мм) на выход эмбрионов из девитрифицированных ооцитов; эффективность применения наночастиц высокодисперсного

кремнезёма в концентрации 0,001% в технологии витрификации; действие сверхнизких температур опосредует изменение ферментативной активности Г6ФДГ и кальциевого транспорта ооцитов свиней, не завершивших фазу роста *in vivo*; появление дополнительного перехода кальция в девитрифицированных растущих ооцитах в направлении из рианодин- в IP<sub>3</sub>-чувствительное депо опосредованно деполимеризацией актиновых микрофиламентов.

**введены** новые понятия и термины – не вводились.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что** расширены представления о механизмах воздействия сверхнизких температур на функционирование структурных компонентов овариальных фолликулов коров и свиней **и доказана** эффективность использования выявленных биоиндикаторов криорезистентности ооцит-кумулюсных *Bos taurus taurus L.* и *Sus scrofa domesticus L.* в технологиях витрификации и экстракорпорального созревания женских гамет.

**применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс современных методов биотехнологии (культивирование половых и соматических клеток овариальных фолликулов, получение эмбрионов *in vitro*), клеточной биологии (визуализация клеточных органелл с помощью флуоресцентных зондов, флуоресцентная микроскопия), криобиологии (витрификация). Полученные результаты подтверждены методом статистического анализа с определением степени достоверности.

**изложены** новые данные о факторах, детерминирующих криоустойчивость ооцитов и клеток гранулёзы сельскохозяйственных животных, а также меж- и внутриклеточные механизмы криогенного происхождения;

**раскрыт** механизм действия наночастиц высокодисперсного кремнезёма на функционирование митохондрий в условиях сверхнизких температур;

**изучены:** влияние витрификации на компетентность женских гамет сельскохозяйственных животных к дальнейшему созреванию и развитию доимплантационных эмбрионов; эффективность применения природных (фолликулярная жидкость) и синтетических (нВДК) криопротекторов путём оценки выхода эмбрионов, функциональной активности мембранных органелл (митохондрий) и жизнеспособности соматических клеток (клеток гранулёзы);

**проведены:** модернизация метода витрификации ооцит-кумулюсных комплексов и соматических клеток овариальных фолликулов *Bos taurus taurus L.*, что обеспечило повышение показателей криорезистентности женских гамет и клеток гранулёзы (жизнеспособности, оплодотворяемости и структурно-функциональной целостности) с целью повышения эффективности технологии витрификации.

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

**разработаны** протоколы витрификации ооцит-кумулюсных комплексов и соматических клеток овариальных фолликулов (клеток гранулёзы) *Bos taurus taurus L.* с использованием превентивной инкубации ооцитов в жидкости фолликулов малого диаметра и наночастиц высокодисперсного кремнезёма в концентрации 0,001%.

**определены** биомаркеры криорезистентности женских гамет и пути подхода к интенсификации технологии витрификации ооцит-кумулюсных комплексов и клеток гранулёзы сельскохозяйственных животных с использованием превентивной инкубации (перед витрификацией) ооцитов в гомологичной фолликулярной жидкости, выделенной из фолликулов диаметром до 3 мм, и введением наночастиц высокодисперсного кремнезёма в концентрации 0,001% в состав криопротекторных сред;

**представлены** научные данные о функционировании клеточных компартментов в девитрифицированных ооцит-кумулюсных комплексах и

их компетентности к завершению мейотического созревания *in vitro*, которые расширяют и углубляют знания о механизмах криотолерантности половых и соматических клеток сельскохозяйственных животных, что позволяет обеспечить дальнейшую модернизацию технологии низкотемпературного хранения женских гамет.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

Экспериментальные данные получены на сертифицированном оборудовании, выбор использованных методов обоснован спецификой работы, в исследованиях использованы классические и современные методы цитологии, криобиологии, биотехнологии, биохимии; достоверность результатов оценена с помощью адекватных методов статистического анализа;

**теория**, изложенная в диссертации, построена на материалах многочисленных научных публикаций отечественных и зарубежных ученых и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ;

**идея базируется** на обобщении передового опыта и направлений научных исследований в области криобиологии, клеточной биологии, ветеринарии и репродуктивной биотехнологии;

**использованы** сравнение данных автора, полученных экспериментальным путем, статистически обработанных, проанализированных и данных, опубликованных ранее по рассматриваемой тематике в области различных отраслей биотехнологии воспроизводства, репродуктивной клеточной биологии ветеринарной медицины;

**установлены** качественные и количественные совпадения результатов исследований автора с данными, представленными в независимых источниках, полученных исследователями в области криобиологии;



**использованы** современные методики сбора и обработки исходных экспериментальных данных с применением программы статистического анализа.

**Личный вклад соискателя состоит** в непосредственном участии в обосновании тематики, планировании и проведении экспериментов, обработке, анализе данных, полученных с помощью современных методов клеточной биологии. Соискательница апробировала результаты исследований на всероссийских и международных научных конференциях, опубликовала статьи и по материалам исследований написала диссертацию и автореферат.

На заседании 16 марта 2021 года, которое проводилось в удаленном интерактивном режиме, диссертационный совет принял решение присудить Чистяковой Ирэне Валерьевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них докторов наук по научной специальности 03.01.06 – 8 человек, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту НЕТ человек, проголосовали: за – 20, против – нет, воздержались – 1.

Председатель совета

Д 006.013.01

Ученый секретарь совета

Д 006.013.01

18 марта 2021 г.



Некрасов Роман Владимирович

Двалишвили Владимир Георгиевич