

**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 февраля 2021 г. № 02

О присуждении **КОРОВИНОЙ Дарье Григорьевне**, гражданке  
Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки сельскохозяйственных животных как перспективный источник для получения трехмерных аналогов мышечной ткани *in vitro*», в виде рукописи, по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), принята к защите 07.12.2020 года, протокол № 45 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 Коровина Дарья Григорьевна 1988 года рождения, в 2011 году окончила ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет прикладной биотехнологии» по специальности технология мяса и мясных продуктов.

С 2012 года по 2015 год работала в должности младшего научного сотрудника, с января 2015 года по настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории стволовой клетки Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко

Российской академии наук». Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 68/19 выдана в 2019 году ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина».

Диссертация выполнена в лаборатории стволовой клетки Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук».

Научный руководитель - доктор биологических наук (03.01.06), профессор Савченкова Ирина Петровна, работает в должности и.о. заведующего лабораторией стволовой клетки ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук».

**Официальные оппоненты:**

- Косовский Глеб Юрьевич, доктор биологических наук (03.01.06), профессор РАН ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева», директор;
- Юрков Сергей Григорьевич, доктор биологических наук (03.01.06), профессор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», лаборатория «Лекарственные средства для животных», главный научный сотрудник

**- дали положительные отзывы на диссертацию.**

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» (141142, Московская область, Щелковский район, поселок Биокомбината, д.17) в своем **положительном заключении**, подписанном Матвеевой Ириной Николаевной - доктором биологических наук, профессором, заместителем

директора по бионанотехнологиям, заведующей отделом молекулярной биологии и вирусологии и утвержденном Забережным Алексеем Дмитриевичем – доктором биологических наук, профессором, членом – корреспондентом РАН отметили, что диссертационная работа Коровиной Д.Г. по актуальности, методическому решению поставленных задач, объему экспериментальных исследований, новизне, теоретической и практической ценности полученных результатов соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а автор диссертационной работы – Коровина Дарья Григорьевна - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) Соискатель имеет 26 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 26 научных работ, опубликованных в виде статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России – 10, 4 – в журналах, индексируемых в базе Web of Science, 5 – в журналах, индексируемых в базе Scopus, одного наставления. Общий объем опубликованных работ по теме диссертации – 78 страниц. Личный вклад соискателя составляет 68 %.

Наиболее значительные работы:

1. Коровина, Д.Г. Поддержание мультипотентных мезенхимных стволовых клеток сельскохозяйственных животных в криогелях на основе полимеров природного происхождения / Д.Г. Коровина, В.В. Стаффорд, А.М. Гулюкин, И.А. Родионов, В.К. Кулакова, В.И. Лозинский, И.П. Савченкова // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, N 6. – С. 1214–1224. – DOI: 10.15389/agrobiology.2019.6.1214rus.

Переводная версия: Korovina, D.G. Maintenance of multipotent mesenchymal stem cells of farm animals in cryogels based on naturally-derived polymers / D.G. Korovina, V.V. Stafford, A.M. Gulyukin, I.A. Rodionov, K.V. Kulakova, V.I. Lozinsky, I.P. Savchenkova // S-kh. Biol. [Agric. Biol.]. – 2019. – Vol. 54, N 6. – P. 1214–1224. – DOI: 10.15389/agrobiology.2019.6.1214eng.

2. Коровина, Д.Г. Сравнительный анализ эффективности различных индукторов для миогенной дифференцировки мультипотентных мезенхимных стволовых клеток крупного рогатого скота / Д.Г. Коровина, И.П. Савченкова // Гены и клетки. – 2019. – Т. XIV, Приложение. – С. 119–120.

3. Korovina, D.G. The use of bovine multipotent mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and adipose tissue as sources to obtain muscle cells in vitro / D.G. Korovina // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. – 2019. – Vol. 315. – P. 042040. – DOI: 10.1088/1755-1315/315/4/042040.

4. Коровина, Д.Г. Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки, выделенные из костного мозга овцы: получение и криоконсервирование / Д.Г. Коровина, И.М. Волкова, С.А. Васильева, М.И. Гулюкин, И.П. Савченкова // Цитология. – 2019. – Т. 61, N 1. – С. 35–44. – DOI: 10.1134/S0041377119010036.

Переводная версия: Korovina, D.G. Multipotent mesenchymal stem cells derived from sheep bone marrow: isolation and cryopreservation / D.G. Korovina, I.M. Volkova, S.A. Vasilieva, M.I. Gulukin, I.P. Savchenkova // Cell Tissue Biol. – 2019. – Vol. 13, N 3. – P. 161–169. – DOI: 10.1134/S1990519X19030052.

5. Коровина, Д.Г. Характеристика мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, выделенных из пуповинной крови лошадей / Д.Г. Коровина, К.П. Юров, С.В. Алексеенкова, Е.А. Савченкова, И.П. Савченкова // Российская сельскохозяйственная наука. – 2017. – N 2. – С. 51–54.

Переводная версия: Korovina, D.G. Characterization of multipotent mesenchymal stem cells isolated from equine cord blood / D.G. Korovina, K.P. Yurov, S.V. Alexeenkova, E.A. Savchenkova, I.P. Savchenkova // Russ. Agric. Sci. – 2017. – Vol. 43, N 3. – P. 262–265. – DOI: 10.3103/S1068367417030090.

В опубликованных работах отражены основные результаты исследований соискателя, обосновывающие мультипотентные мезенхимные



стволовые клетки сельскохозяйственных животных как перспективный источник для получения трехмерных аналогов мышечной ткани *in vitro*.

На автореферат диссертации поступило 5 положительных отзывов:

Казанский ФЦ токсикологической, радиационной и биологической безопасности (канд. биол. наук Мухаммадиев Р.С., д-р биол. наук Тремасова А.М.); Московский институт механизации животноводства (канд. с.-х. наук, доцент Петров Е.Б.); Московская ветеринарная академия (д-р биол. наук профессор, чл.-корр. РАН Девришов Д.А.); Башкирский медицинский университет (канд. биол. наук, доцент Данилко К.В.); Казанский (Приволжский) федеральный университет (канд. биол. наук Закирова Е.Ю.);

В отзыве Казанского (Приволжский) федерального университета имеются вопросы по полноте анализа цитоплазматических маркеров клеток, использованных в исследовании в качестве МСК; по отсутствию данных о поверхностных маркерах МСК костного мозга овец, которые были выделены автором для проведения исследований; по выбору носителя Alvetex для 3D культивирования клеток, в качестве контроля не представлены данные об аминокислотном и фракционном составе нативных МСК, было бы интересно сравнить эти показатели в нативных и дифференцированных клетках.

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:**

**разработан** протокол выделения мультипотентных мезенхимных стволовых клеток из пуповинной крови лошадей и костного мозга овец с

использованием градиента плотности раствора Lympholyte-H в пробирке SepMate-15;

**предложены:** параметры оптимальных условий культивирования с использованием метода «висячей капли» для создания микрокультуры агрегатов мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, полученных от крупного рогатого скота; параметры культивирования культур животных мультипотентных мезенхимных стволовых клеток в объемных криогелях на белковой основе для дальнейшего крупномасштабного суспензионного культивирования полученных клеточных структур; различные протоколы дифференцировки мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, полученных от крупного рогатого скота, в клетки скелетной мышечной ткани;

**доказаны:** влияние различных криозащитных сред, в том числе включающих в состав кондиционированную среду, на показатели жизнеспособности культур мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, полученных от лошади, овцы и крупного рогатого скота; возможность заключения мультипотентных мезенхимных стволовых клеток в термолабильный желатиновый гель для их сохранения, в том числе выявлены преимущества использования 2%-го желатинового геля; условия для направленной миогенной дифференцировки *in vitro* культур мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, полученных из костного мозга и жировой ткани крупного рогатого скота;

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

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказано** преимущество применения мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, полученных из жировой ткани крупного рогатого скота, как потенциального источника для получения аналогов мышечной ткани, приближенных к говядине по характеристикам качественного и количественного состава белков.

**применительно к проблематике диссертации результативно использованы** современные методы и приемы исследований ряда отраслей биотехнологии, таких как биомедицина, промышленная, сельскохозяйственная и пищевая биотехнология.

**изложены** составы криозащитных сред, способствующих получению после криоконсервирования размороженных мультипотентных мезенхимных стволовых клеток сельскохозяйственных животных в хорошем состоянии с высокой степенью выживаемости;

**раскрыт** метод включения культур мультипотентных мезенхимных стволовых клеток в термолабильный желатиновый гель для их сохранения вплоть до 24 ч, обеспечивающий общую доступность мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, как источника клеток;

**изучена** эффективность применения криогелей на основе желатина, белков плазмы крови крупного рогатого скота и сыворотки плодов коров, обеспечивающих адаптацию адгезивных культур мультипотентных мезенхимных стволовых клеток сельскохозяйственных животных к крупномасштабному суспензионному культивированию;

**проведены:** оптимизация метода «висячей капли» для мультипотентных мезенхимных стволовых клеток сельскохозяйственных животных, что способствует разработке подходов к изысканию новых лекарственных веществ и токсикологическим исследованиям в трехмерном микроокружении; подбор составных сред и систем клеточного сокультивирования для миогенной дифференцировки *in vitro* мультипотентных мезенхимных стволовых клеток с целью получения аналогов мышечной ткани.

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

**разработан** протокол выделения для получения популяции ММСК сельскохозяйственных животных с использованием минимальных объемов

образцов. Культуры мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, полученные из пуповинной крови лошади и костного мозга барана, **депонированы** в Специализированную Коллекцию перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных (СХЖ РККК ВИЭВ) при ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН под № 94 и 95 соответственно;

**разработаны и внедрены** в практику лаборатории стволовой клетки ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН «Наставления по трехмерному культивированию мультипотентных мезенхимных стволовых клеток сельскохозяйственных животных *in vitro*», утвержденные Ученым Советом ГНУ Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко, протокол № 4 от 29 апреля 2014 г. и секцией «Инфекционная патология животных» Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 3 от 15 июля 2014 г.;

**определены** параметры подхода к получению мышечной ткани *in vitro* в процессе миогенеза при суспензионном культивировании мультипотентных мезенхимных стволовых клеток с использованием носителей на белковой основе;

**созданы** научные основы крупномасштабного биотехнологического процесса создания «мяса *in vitro*». Включающая материалы исследования разработка «Инновационное решение для получения животного полноценного белка методами клеточной биотехнологии» авторов И.М. Волковой, Д.Г. Коровиной, И.П. Савченковой награждена дипломом и бронзовой медалью XIX Московского международного Салона изобретений и инновационных технологий «Архимед – 2016»;

**представлены** научные данные о влиянии условий культивирования и криоконсервирования, которые расширяют и углубляют знания о методах работы с материалами Специализированной Коллекции перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых



животных (СХЖ РККК ВИЭВ) или иной коллекции клеточных культур, что позволяет обеспечивать гарантии стабильного качества клеток.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

экспериментальные исследования проводились с использованием классических и современных методов и приемов цитологии, гистологии, молекулярной биологии и биохимии на сертифицированном оборудовании; полученные данные обработаны статистически с определением степени достоверности;

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

**идея базируется** на обобщении тенденций и данных актуальных передовых научных исследований в области биотехнологии, биомедицины и ветеринарии;

**использованы** полученные экспериментальным путем, статистически обработанные, проанализированные и интерпретированные в том числе с точки зрения сопоставления с накопленными научными знаниями в области различных отраслей биотехнологии, регенеративной, ветеринарной медицины оригинальные данные;

**установлены** качественные и количественные совпадения результатов собственных исследований автора с результатами, опубликованными в независимых источниках по данной тематике;

**использованы** современные методики получения и анализа исходных экспериментальных данных с применением программного обеспечения.

**Личный вклад соискателя состоит** в непосредственном участии на всех этапах работы, а именно анализе современного состояния предмета исследований, теоретическом обосновании идеи и планировании схемы

исследований; освоении методик исследований, проведении научно-хозяйственных опытов для получения биологических образцов от сельскохозяйственных животных, которые были необходимы по теме диссертации; анализе и обобщении результатов исследований и их статистической обработке; широкой апробации полученных научных данных, подготовке публикаций и конкурсной документации по материалам выполненной работы, написании текста диссертационной работы и автореферата.

На заседании 16 февраля 2021 года, которое проводилось в удаленном интерактивном режиме, диссертационный совет принял решение присудить Коровиной Дарье Григорьевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них докторов наук по научной специальности 03.01.06 – 7 человек, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту НЕТ человек, проголосовали: за – 22, против – нет, воздержались – нет.

Председатель совета  
Д 006.013.01

Ученый секретарь совета  
Д 006.013.01

18 февраля 2021 г.



Некрасов Роман Владимирович

Двалишвили Владимир Георгиевич