Министерство образования и науки Российской Федерации
федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Школа Инженерная школа новых производственных технологий
Направление подготовки химическая технология биологически активных веществ
Отделение школы (НОЦ) имени Н.М Кижнера

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы
Получение и исследование биоразлагаемых скаффолдов с модифицированными поверхностями

УДК 577.11:086.83-047.37

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4ГМ6А	Гуляев Роман Олегович		06.07.18

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор	Филимонов В.Д	д.х.н		8.06.18

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Черепанова Наталья Владимировна	к.ф.н.		06.06.18

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Волков Юрий Викторович	к.т.н		06.07.18

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
	Казьмина Ольга Викторовна	д.т.н.		08.06.18

Томск – 2018 г.

Планируемые результаты обучения
по ООП 18.04.01 «Химическая технология» (магистр)
профиль «Химия и технология биологически активных веществ»

Код результата	**Результат обучения (выпускник должен быть готов)**
	Профессиональные компетенции
Р1	Применять *глубокие* естественно-научные, математические и инженерные *знания* для создания *новых* материалов
Р2	Применять *глубокие знания* в области современных технологий химического производства для решения *междисциплинарных* инженерных задач
Р3	Ставить и решать *инновационные* задачи *инженерного анализа*, связанные с созданием материалов и изделий, с использованием системного анализа и моделирования объектов и процессов химической технологии
Р4	Разрабатывать химико-технологические процессы, *проектировать* и использовать *новое* оборудование для создания материалов, конкурентоспособных на *мировом* рынке
Р5	Проводить теоретические и экспериментальные *исследования* в области создания *новых* материалов, современных химических технологий, нанотехнологий
Р6	Внедрять, *эксплуатировать* современные высокотехнологичные линии автоматизированного производства, обеспечивать их *высокую эффективность*, соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на химическом производстве, выполнять требования по защите окружающей среды
	Универсальные компетенции
Р7	Использовать *глубокие знания* по *проектному менеджменту* для ведения *инновационной* инженерной деятельности с учетом юридических аспектов защиты интеллектуальной собственности
Р8	*Активно* владеть *иностранным языком* на уровне, позволяющем работать в иноязычной среде, разрабатывать документацию, презентовать и защищать результаты инновационной инженерной деятельности
Р9	Эффективно работать индивидуально, в качестве *члена и руководителя группы*, состоящей из специалистов различных направлений и квалификаций, демонстрировать ответственность за результаты работы и готовность *следовать корпоративной культуре* организации
Р10	Демонстрировать *глубокие знания социальных, этических и культурных аспектов* инновационной инженерной деятельности, компетентность в вопросах *устойчивого развития*
Р11	*Самостоятельно учиться* и непрерывно *повышать квалификацию* в течение всего периода профессиональной деятельности

Министерство образования и науки Российской Федерации
федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Школа Новых Производственных Технологий
Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология
Отделение школы (НОЦ) Научно образовательный центр Н.М. Кижнера

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ООП
08.06.18 Казьмина О.В.
(Подпись) (Дата) (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

Магистерской диссертации

Студенту:

Группа	ФИО
4ГМ6А	Гуляев Роман Олегович

Тема работы:

Получение и исследование биоразлагаемых скаффолдов из полимолочной кислоты с модифицированной поверхносиью	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	06.03.2018 № 1530/С
Срок сдачи студентом выполненной работы:	8.06.2018

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

Исходные данные к работе	Объектом исследования является скаффолды из полимолочной кислоты полученные методом электроспиннинга
Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов	• *Обзор литературы* • *Объект и методы исследования* • *Описание экспериментальной части* • *Результат проведенного исследования* • *Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение*

	• *Социальная ответственность* • *Заключение*
Перечень графического материала	• Приложение А • Презентация на тему: Получение и исследование биоразлагаемых скаффолдов из полимолочной кислоты с модифицированной поверхностью

Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы

Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Черепанова Н.В., к.ф.н., доцент, ИШП отделение социально-гуманитарных наук
Социальная ответственность	Волков Ю.В., к.т.н., доцент, ИШНК отделение контроля и диагностики
Иностранная часть	Квашина О.С., старший преподаватель, отделение иностранных языков ФТИ

Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:

Разделы, написанные на русском языке: литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальная часть, финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение, социальная ответственность, выводы.

Разделы, написанные на иностранном языке: литературный обзор.

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	29.01.2018

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор НОЦ Н.М. Кижнера	Филимонов В.Д	д.х.н.		8.06.18

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4ГМ6А	Гуляев Роман Олегович		7.06.18

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»

Студенту:

Группа	ФИО
4ГМ6А	Гуляеву Роману Олеговичу

Школа	**ИШНТП**	**Отделение школы (НОЦ)**	**им Н.М Кижнера**
Уровень образования	Магистратура	**Направление/специальность**	ХТБАВ 18.03.01

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:	
1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	– Исследование выполнено в рамках гранта РНФ № 16-13-10239. – Максимальная стоимость исследования - 10 млн. руб. – Имеется оборудование для проведения исследования на сумму 5,2 млн. руб. – В реализации проекта задействованы 2 человек: 2 руководителя проекта (отвечающие за разные научные направления проекта и гранты), 1 исполнитель проекта –
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	– Федеральный закон от 24.07.2009 №212-ФЗ «О страховых взносах в Пенсионный фонд Российской Федерации, Фонд социального страхования Российской Федерации, Федеральный фонд обязательного медицинского страхования» – ГОСТ 14.322-83 «Нормирование расхода материалов» – ГОСТ Р 51541-99 «Энергосбережение. Энергетическая эффективность» Минимальный размер оплаты труда(на 2018 год) составляет 6675 руб.
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	- Отчисления по страховым взносам - 30% от ФОТ
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Оценка коммерческого и инновационного потенциала НТИ	– Инициализация проекта, его технико-экономическое обоснование и потенциальные потребители результатов. Анализ конкурентных технических решений и возможных альтернатив проведения НТИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения.
2. Разработка устава научно-технического проекта	– Разработка устава научно-технического проекта
3. Планирование процесса управления НТИ: структура и график проведения, бюджет, риски и организация закупок	– Планирование работ по проекту. – Расчет бюджета затрат на проектирование, в т. ч. материальных затрат, затрат на оборудование и заработную плату.
4. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности	Определение ресурсной, финансовой и экономической эффективности исследования.
Перечень графического материала *(с точным указанием обязательных чертежей):*	

1. *«Портрет» потребителя результатов НТИ*
2. *Сегментирование рынка*
3. *Оценка конкурентоспособности технических решений*
4. *Диаграмма FAST*
5. *Матрица SWOT*
6. *График проведения и бюджет НТИ*
7. *Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НТИ*
8. *Потенциальные риски*

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	17.03.18

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Черепанова Наталья Владимировна	к.ф.н.		06.06.18

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4ГМ6А	Гуляев Роман Олегович		06.06.18

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа	ФИО
4ГМ6А	Гуляеву Роману Олеговичу

Школа	**ИШНТП**	**Отделение школы (НОЦ)**	**Им. Н.М Кижнера**
Уровень образования	Магистратура	**Направление/специальность**	ХТБАВ 18.03.01

Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Описание рабочего места (рабочей зоны, технологического процесса, механического оборудования) на предмет возникновения: *– вредных проявлений факторов производственной среды (метеоусловия, вредные вещества, освещение, шумы, вибрации, электромагнитные поля, ионизирующие излучения)* *– опасных проявлений факторов производственной среды (механической природы, термического характера, электрической, пожарной и взрывной природы)* *– негативного воздействия на окружающую природную среду (атмосферу, гидросферу, литосферу)* *– чрезвычайных ситуаций (техногенного, стихийного, экологического и социального характера)*	***Объект исследования*** *– тканеинженерные скаффолды на основе полимолочной кислоты, модифицированные желатином.* ***Рабочая зона*** *– Лаборатория НОЦ им Н.М Кижнера, Томский политехнический университет, Томск (Россия).* ***Область применения*** *- трансляционная медицина*
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Анализ выявленных вредных факторов проектируемой производственной среды в следующей последовательности: *– физико-химическая природа вредности, её связь с разрабатываемой темой;* *– действие фактора на организм человека;* *– приведение допустимых норм с необходимой размерностью (со ссылкой на соответствующий нормативно-технический документ);* *– предлагаемые средства защиты (сначала коллективной защиты, затем – индивидуальные защитные средства)*	***1.1****. Выявление вредных факторов в молекулярно-биологической лаборатории при разработке и проведении научного исследования:* *- вредные вещества (этанол, меркаптоэтанол, серная кислота), освещение, производственный шум, ультрафиолетовое излучение, микроклиматические условия;* *- физико-химическая природа вредности веществ и их связь с разрабатываемой темой;* *- действие вредных веществ на организм (действие этанола согласно ГОСТ 5964-93, серной кислоты согласно ГОСТ 2184-2013, недостаточного освещения согласно СНиП 23-05-95, шума согласно СН 2.2.4/2.1.8.562-96, ГОСТ 12.1.029-80, ультрафиолетового излучения согласно СН 4557-88, микроклимата согласно СанПин 2.2.4.548-96);* *- предлагаемые средства защиты для работы в молекулярно-биологической лаборатории:* *1. коллективная защита - работа под вытяжным шкафом;* *2. индивидуальные средства защиты - одноразовые перчатки, халат;*
2. Анализ выявленных опасных факторов проектируемой произведённой среды в следующей последовательности *– механические опасности (источники, средства*	***1.2.*** *Выявление опасных факторов в молекулярно-биологической лаборатории при разработке и проведении научного*

защиты; – *термические опасности (источники, средства защиты);* – *электробезопасность (в т.ч. статическое электричество, молниезащита – источники, средства защиты);* – *пожаровзрывобезопасность (причины, профилактические мероприятия, первичные средства пожаротушения)*	*исследования:* *- биологический фактор (биологический материал - кровь человека);* *- термическая опасность (оборудование с повышенной или пониженной температурой);* *- электробезопасность (наличие химически активной и органической среды, разрушающей изоляцию и токоведущие части электрооборудования);* *- пожаровзрывоопасность (оборудование, работающее под давлением, и наличие легковоспламеняющих жидкостей);*
3. Охрана окружающей среды: – *защита селитебной зоны* – *анализ воздействия объекта на атмосферу (выбросы);* – *анализ воздействия объекта на гидросферу (сбросы);* – *анализ воздействия объекта на литосферу (отходы);* – *разработать решения по обеспечению экологической безопасности со ссылками на НТД по охране окружающей среды.*	*- вредные вещества, которые выделяются или используются во время эксперимента через вентиляционную систему;* *- твердые отходы (биоматериал) класса Б;* *- разработка решений по обеспечению экологической безопасности*
4. Защита в чрезвычайных ситуациях: – *перечень возможных ЧС на объекте;* – *выбор наиболее типичной ЧС;* – *разработка превентивных мер по предупреждению ЧС;* – *разработка мер по повышению устойчивости объекта к данной ЧС;* – *разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий*	*- перечень возможных ЧС при разработке и проведении научного исследования - пожар, взрыв, разрушение зданий в результате разрядов атмосферного электричества;* *- разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий:* *1. Использование огнетушителя, песка, азбестового одеяла;* *2. В случае стихийных бедствий отключение воды и электричества;* *3. Организационная эвакуация работающих.*
5. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности: – *специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства;* – *организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны*	*- "Трудовой кодекс Российской Федерации" от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. от 31.12.2014)* *- организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны: технический перерыв, проветривание, полная изоляция от производственных источников шума.*
Перечень графического материала:	

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Волков Юрий Викторович	К.т.н.		06.06.18

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4ГМ6А	Гуляев Роман Олегович		06.07.18

Приложение 1

Раздел 4

Литературный обзор

Студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4ГМ6А	Гуляев Роман Олегович		06.06.18

Консультант школы отделения (НОЦ)___(аббревиатура школы, отделения (НОЦ))_____:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Квашнина Ольга Сергеевна		Квашн	08.06.18

Консультант – лингвист отделения (НОЦ) школы_____им Н.М Кижнера

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Кузьмина О.М			

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа содержит 124 с., 12 рис., 27 табл., 88 источников, 1 прил.

Ключевые слова: тканеинженерные скаффолды, полимолочная кислота, желатин, мезенхемальные стволовые клетки, регенерация, модифицирование.

Объектом исследования являются тканеинженерные скаффолды на основе полимолочной кислоты с модифицированной поверхнотсью.

Цель работы – применение нового метода модифицирования скаффолдов на основе полимолочной кислоты, полученных методом электроспиннинга, для иммобилизации желатина на поверхность скаффолдов, а также изучение свойства полученных материалов.

В процессе исследования проводились: изучение физико-химических свойств тканеинженерных скаффолдов методами гравиметрии, СЭМ, флуоресцентной микроскопи, измерение смачиваемости поверхности скаффолов, коэффициента набухания, пористости, геометрии. Проведена оценка ресурсоэффективности проекта, а также разработаны мероприятия по охране труда и защите окружающей среды.

В результате исследования было показано, что модифицирование скаффолдов из полимолочной кислоты с использованием стратегии “растворитель/нерастворитель” не изменяет морфологию волокон материала, нанесение желатина значительно увеличивает гидрофильность и, как следствие, способность материала поглощать влагу, а также улучшает адгезию и пролиферацию МСК. Данные свойства наблюдаются уже после пятиминутной обработки скаффолда в растворе желатина.

Степень внедрения: результаты работы опубликованы 5 тезисах конференций; представлены на 1 российской и 3 международных конференциях (Россия). Работа отмечена дипломом 1 степени на 18 Международной практической конференции студентов и молодых ученых "Химия и химическая технология в 21 веке" имении профессора Л.П Кулева. Томск, 21-24 Мая 2018г, дипломом 1 степени на Международной научно-технической молодежной конференции «Высокие технологии в науке и техники», 27-29 ноября 2017, Томск, ТПУ, дипломом 3 степени на 28 Менделеевском конкурсе студентов химиков. Новосибирск 13-18 Мая 2018г.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта **РНФ № 16-13-10239** «Разработка и моделирование гибридных биодеградируемых скаффолдов с прогнозируемыми физико-химическими и иммуномодулирующими свойствами для тканеинженерных конструкций».

Область применения: трансляционная медицина, регенеративная медицина

Экономическая эффективность/значимость работы: проведенное исследование имеет коммерческий потенциал в сфере регенеративной медицины.

Определения, обозначения, сокращения, нормативные ссылки

Нормативные ссылки

В настоящей работе использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 5964-93 Спирт этиловый. Правила приемки и методы анализа.

ГОСТ 12.0.230-2007 "Система стандартов безопасности труда. Системы управления охраной труда. Общие требования ILO-OSH2001".

ГОСТ Р 12.1.019-2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ 12.1.029-80 Система стандартов безопасности труда. Средства и методы защиты от шума. Классификация.

ГОСТ Р 12.3.047-98 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность технологических процессов. Общие требования. Методы контроля.

Определения

В данной работе применены следующие термины с соответствующими определениями:

биосовместимость: Способность материала встраиваться в организм пациента, не вызывать побочных клинических проявлений и индуцировать клеточный или тканевый ответ, необходимый для достижения оптимального терапевтического эффекта.

пролиферация: Разрастание ткани организма путем размножения клеток делением.

Обозначения и сокращения

ПМК – полимолочная кислота;

PBS- натрий-фосфатный буфер;

МСК- мезенхемальные стволовые клетки;

ММСК- мультипотентные мезенхемальные стволовые клетки;

БАС- биологически активные системы;

Оглавление

1. Литературный обзор. 16

1.1 Основные материалы для изготовления скаффолдов. 17

1.2 Основные методы изготовления тканеинженерных скаффолдов. 20

1.3Методы, основанные на использовании растворителей и высоких температур. 20

1.4 Быстрое прототипирование. 21

1.5 Получение композитных материалов на основе ПМК и желатина.... 23

2Материалы и методы. 26

2.1 Материалы. 26

2.2 Изготовление скаффолдов. 26

2.3 Модифицирование поверхности скаффолдов. 26

2.4 Изучение морфологии волокон скаффолдов. 27

2.5 Исследование смачиваемости поверхности скаффолдов. 27

2.6 Измерение пористости скаффолдов. 27

2.7 Определение коэффициента набухания скаффолдов. 28

2.8 Определение коэффициента усадки скаффодлов. 28

2.9 Определение изменения массы скаффолдов после модифицирования. 29

2.10 Испытания прочности на растяжение. 29

2.11Клеточные исследования. 29

2.12 Статистический анализ. 30

3. Расчеты и аналитика 31

4 Результаты и обсуждения. 32

4.1 Изучение морфологии скаффолдов. 32

4.2 Исследование смачиваемости поверхности скаффолдов. 33

4.3 Измерение коэффициента набухания и пористости полученных материалов. 34

4.4 Результаты измерения количества нанесенного желатина. 35

4.5 Результаты измерения коэффициента усадки полученных материалов. 35

4.6 Испытания прочности на растяжение. 36

4.7 Флуоресцентная микроскопия клеток. 37

5. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение 39

5.1 Оценка коммерческого и инновационного потенциала НТИ 39

5.2 Планирование исследования 51

5.3 Расчет бюджета исследования 59

5.4 Определение ресурсной, финансовой, и экономической эффективности исследования 81

6. Социальная ответственность 86

6.1 Производственная безопасность 87

6.2 Экологическая безопасность 104

6.2.1 Защита атмосферы 104

6.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях 105

6.4 Правовые и организационные мероприятия обеспечения безопасности 107

Выводы: 111

Список публикаций студента: 113

Список использованных испочников: 115

Приложение 1 125

CD диск. Магистерская диссертация

(файл Гуляев.docx в формате Microsoft Word)……..141

1. *Введение.*

Развитие методов изготовления и модифицирования полимеров и изделий на их основе поможет перейти к решению важнейших задач теоретической и практической тканевой инженерии [1,2]. Одним из самых востребованных биомедицинских полимеров на сегодняшний день является полимолочная кислота (ПМК), представляющая собой продукт полимеризации молочной кислоты. Полимолочная кислота - биоразлагаемый, биосовместимый, термопластичный полиэфир. ПМК обладает следующими свойствами: биологическая безопасность, не токсичность, перерабатываемость [3], нерастворимость в спиртах и воде, биоразлагаемость, растворимость в большинстве органических растворителей. Полимолочная кислота нашла свое применение для производства изделий с коротким сроком службы, хирургических нитей, имплантатов, штифтов и прочих изделий медицинского назначения [4].

Создание и внедрение биоматериалов, способных замещать или регенерировать дефекты органа или ткани, является одной из актуальных тем в биотехнологии и регенеративной медицине [5,3]. Ключевым элементом этой технологии являются тканеинжинерные биодеградируемые скаффолды [6]. Скаффолды представляют собой трехмерные высокопористые или волокнистые каркасы, способствующие пролиферации и дифференцировки клеток, тем самым стимулируя регенерацию тканей *in vitro* [7,8].

Функциональное значение скаффолда заключается в обеспечении прикрепления и миграции клеток, а также в создании оптимальных условий для метаболизма и дифференцировки клеток [3]. По этим причинам разработка скаффолдов является одной из главных задач в тканевой инженерии [9,3].

Использование синтетических биодеградируемых скаффолдов из полимолочной кислоты находит широкое применение в регенеративной медицине. Однако, у них есть ряд недостатков, таких как гидрофобность поверхности и малое количество реакционно-способных групп [10,11].

Альтернативным вариантом повышения эффективности такого скаффолда является внедрение в его структуру биополимеров, способствующих росту и дифференцировке имплантированных клеток. Целый ряд исследований свидетельствуют о высокой эффективности композитных скаффолдов в тканевой инженерии [12,13].

Одним из таких биополимеров является желатин. Преимуществами комбинирования полимолочной кислоты с желатином являются повышение скорости пролиферации стромальных клеток костного мозга, повышение гидрофильности и биосовместимости [14]. В фармацевтической и медицинских областях желатин уже давно используются в качестве герметика для сосудистых протезов [15,16], носителя для доставки лекарственных средств [17,18], средства заживления ран [19,20] и т.п. В то же время существуют работы, в которых отмечаются недостаточные для осуществления хирургических манипуляций значения механических характеристик изделий из желатина, что ограничивает возможное применение последних [21]. Помимо этого, использование желатина ограничивается его высокой растворимостью в воде и быстрой биорезорбцией в организме [22]. Особенностью растворимости желатина является то, что при температуре выше 37 °C он представляет собой коллоидный золь, а при более низкой температуре (например, при комнатной) застывает в виде геля. В связи с этим, желатин редко рассматривался в качестве материала для тканевой инженерии без какой либо обработки [23]. Тем не менее, создание композитного материала может решить недостатки как синтетических полимеров, так и природных. Такая стратегия может позволить получить материал для тканевой инженерии и для доставки лекарственных средств [24] с хорошей биосовместимостью и улучшенными физико-химическими свойствами [25].

Таким образом, целью данной работы является разработка и исследование свойств тканеинженерных скаффолдов на основе полимолочной кислоты, полученных методом электроспиннинга, с иммобилизованным на

поверхности желатином. Для реализации поставленной цели, был использован новый метод модифицирования поверхности тканеинжинерных скаффолдов из ПМК.

Объектом исследования являются тканеинженерные скаффолды. Предмет исследования – метод поверхностного нанесения БАВ на поверхность материалов из ПМК с использованием стратегии «растворитель/нерастворитель».

Научная новизна данной работы заключается в том, что впервые разработаны и исследованы композитные биодеградируемые скаффолды, полученные с использованием нового метода модифицирования поверхности.

Практическая значимость результатов работы состоит в том, что разработанный метод может быть использован для иммобилизации широкого спектра белковых соединений и других БАС на поверхности синтетических биодеградируемых полимеров для медицинского назначения.

Результаты работы опубликованы в 5 тезисах конференций; представлены на 1 российской и 3 международных конференциях, отмечена дипломом на 28 Менделеевском конкурсе студентов химиков.

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю – Виктору Дмитриевичу Филимонову за ценные советы, идеи и поддержку в течение выполнения работы.

Автор благодарит своего научного руководителя – Сергея Ивановича Твердохлебова за плодотворное сотрудничество и содействие в проведении экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке:

- РНФ № 16-13-10239 «Разработка и моделирование гибридных биодеградируемых скаффолдов с прогнозируемыми физико-

химическими и иммуномодулирующими свойствами для тканеинженерных конструкций».

1. *Литературный обзор.*

Благодаря трехмерной структуре скаффолда клетки мигрируют, дифференцируются и пролиферируют в трех пространственных направлениях, в конечном итоге стимулируя регенерацию ткани. В процессе роста ткани, на поверхности скаффолда происходит формирование внеклеточного матрикса. Одновременно с ростом ткани, скаффолд, используемый в качестве временного каркаса, деградирует и резорбируется из организма.

Биодеградируемый скаффолд является одним из основных элементов регенеративной медицины, так как позволяет восстанавливать или замещать утраченные ткани и органы. В настоящее время скаффолды используются в качестве матрицы, заполняющей свободное пространство, образовавшееся в результате травмы (кондуктивная функция), а также в качестве трехмерной платформы для выращивания тканей *in vitro* из клеток реципиента с последующей имплантацией. Кроме того, скаффолд используется в качестве системы адресной доставки лекарственных средств или биологически активных веществ [26] .

Для формирования полноценной ткани, скаффолд должен обладать рядом свойств: наличие адгезивной поверхности, способствующей пролиферации и дифференцировке клеток; биосовместимость и отсутствие иммунологического отторжения; нетоксичность; механические свойства, позволяющие выполнять поддерживающие функции до завершения процесса восстановления; при этом необходим баланс между достаточной пористостью и механическими свойствами; биодеградация, скорость которой соответствовала бы росту собственной ткани; оптимальный размер связанных между собой пор для пространственного распределения клеток, васкуляризации, а также диффузии питательных веществ и удаления продуктов жизнедеятельности. Помимо этого технология создания скаффолда должна обеспечивать воспроизводимость результата [17-29].

1.1 Основные материалы для изготовления скаффолдов.

Можно выделить три большие группы материалов, используемые для создания тканеинженерных скаффолдов [30,31]:

1. *Природные полимеры*. Природные полимеры могут быть определены как полимеры, полученные из природных источников. Полимеры природного происхождения – это биологически узнаваемые материалы, которые представляют все природные фрагменты, необходимые для правильного взаимодействия клеток и белков. Кроме того, биополимеры схожи по своей структуре со структурой внеклеточного матрикса. Данные свойства биополимеров представляют интерес для тканевой инженерии. Однако природные полимеры также имеют некоторые ограничения, такие как специальные условия хранения и низкие прочностные характеристики, высокая скорость резорбции, иммуногенность. Кроме того, при взаимодействии с органическими растворителями может происходить разрушение структуры биополимера. Примерами природных полимеров являются шелк, шерсть, ДНК, целлюлоза и белки, а также их комбинации [32].
2. *Синтетические полимеры.* Синтетические полимеры также представляют интерес для тканевой инженерии. Благодаря широким возможностям синтеза и высокой способности к модифицированию материалов, можно легко получить необходимый спектр физико-химических свойств матриц [33]. Синтетические полимеры могут быть структурированы на две группы: биоразлагаемые и небиоразлагаемые. Полимолочная кислота, полиакриловая кислота и поликапралактон – наиболее используемые биоразлагаемые полимеры, в то время как полиакриламид и полистирол считаются небиоразлагаемыми полимерами [34].
3. *Биокерамика* - это термин, введенный для биоматериалов, которые производятся путем спекания или плавления неорганических материалов для создания аморфного или кристаллического твердого тела, которое может быть использовано в качестве имплантата. Компоненты

биокерамики такие как: кальций, кремнезем, магний, калий, натрий, биоактивные стекла различного состава [35], нашли свое применение в регенеративной медицине костной ткани благодаря биосовместимости за счет их присутствия в минеральной фазе костной ткани [36].

4. *Комбинация материалов.* Стоит отметить, что при получении скаффолдов в последнее время все реже используется какой-либо один. Чаще всего, для достижения необходимых параметров скаффолдов при изготовлении используют комбинацию нескольких материалов (композиты), имеющих разные свойства [37]. Например, стабильность полимеров, обладающих недостаточной механической прочностью, может быть усилена путем добавления более прочных полимеров. Аналогичным образом к материалам, имеющим малой биологической активностью, могут быть добавлены более биоактивные полимеры [38].

Из приведенных выше групп материалов наиболее широкий спектр применения нашли биоразлагаемые полимерые материалы, со временем полностью замещающиеся на новые ткани. Наиболее распространенным полимером из этого класса является полимолочная кислота (ПМК) (рисунок 1) [39] .

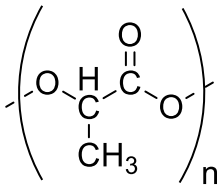


Рисунок 1 - Структурная формула полимолочной кислоты

В течение последних десятилетий деградация материалов на основе ПМК изучалась для практических медицинских применений, таких как системы доставки лекарств, швы и хирургические имплантаты. Преимуществом материалов на основе ПМК оставалось контролируемое время биодеградации и биосовместимость.

Ряд работ посвящен изучению реакции клеток иммунитета на ПМК с использованием *in vitro* и *in vivo* моделей [40,41]. В работах Parks et al и Zhu

et al. было показано преимущество комбинирования ПМК и полигликолевой кислот. Было обнаружено, что сополимер молочной и гликолевой кислот стимулирует созревание дендритных клеток *in vitro* [42] . Также в работе Bos et al. установлено, что в результате подкожной имплантации ПМК крысам в области спины на 143 недели, стимуляции воспаления обнаружено не было [43].

Таким образом, ПМК обладает всеми необходимыми свойствами, позволяющими использовать этот полимер для создания тканеинженерных скаффолдов [44]. Однако, из-за указанных ранее недостатков, а также наличия воспалительного клеточного ответа в острой фазе, ограничивается применение ПМК в качестве каркаса для тканевой инженерии. Данные недостатки могут быть компенсированы модифицированием поверхности природными полимерами. В качестве модифицировавшего полимера нами был выбран желатин.

Команда Y. Zeng исследовали влияние желатина с внедренными человеческими ММСК, выделенными из жировой ткани, на регенерацию тканей кожи in vivo. Также, было проведено сравнение традиционной 2D культуры и 3D культуры in vitro. По результатам эксперементов in vitro, было показано, что выделенные из жировой ткани человеческие ММСК обладали высокой адгезией к поверхности микрогеля из желатина. Также было установлено, что микрогель желатина формирует благоприятную микросреду для эндотелиальной индукции клеток ММСК, а это потенциально может ускорить регенерацию тканей in vivo. Получив доказательства того, что микрогель желатина улучшает терапевтический эффект ММСК и способствует лучшему их введению [45], Y. Zeng и соавторы продолжили исследование in vivo. Как и ожидалось, микрогель желатина удерживал ММСК в месте инъекции, ткани были более васкуляризированы. В группе микрогель желатина + ММСК произошло полное заживление раны без образования рубцовой ткани [45].

Таким образом, желатин является перспективным модифицирующим агентом для увеличения биосовместимости скаффолда, так как позволяет увеличить биосовместимость, биологическую активность и механические характеристики каркаса из синтетического полимера.

1.2 Основные методы изготовления тканеинженерных скаффолдов.

Следующим важным шагом после подбора материала является выбор метода изготовления скаффолда с необходимыми свойствами. На сегодняшний день существует ряд технологий, позволяющих получать тканеинженерные скаффолды нужной формы, размера и состава.

1.3 Методы, основанные на использовании растворителей и высоких температур.

Для изготовления волокнистых и пористых структур из биодеградируемых натуральных и синтетических полимеров используют такие методы, как электроформование, фазоразделение, лиофилизация и выщелачивание [46].

Электроформование широко используется при получении синтетических нановолокон для различных применений, поскольку позволяет точно контролировать состав, структуру и механические свойства полученного материала. Формование волокон происходит под действием электрического поля, возникающего при подаче зарядов разных знаков на иглу, из которой подается раствор полимера, и на сборочный коллектор [47]. Контроль таких переменных, как концентрация полимерного раствора, молекулярная масса полимера, проводимость прядильного раствора, поверхностное натяжение, скорость выходного потока, расстояние между иглой и коллектором, геометрия коллектора и скорость вращения коллектора во время электроспиннинга, позволяют изготавливать волокна с определенной морфологией, диаметром и выравниванием [48].

Метод фазоразделения основан на получении двух фракций (с высокой и низкой концентрацией полимера) путем создания определенных температурных условий [49]. При удалении растворителя, фракция с высокой

концентрацией полимера затвердевает, формируя волокнистые и пористые структуры. Недостатком полученных данным методом материалов является трудность контроля внутренней морфологии волокон [50].

Метод лиофилизации основан на сублимационном принципе. Раствор полимера подвергается воздействию низких температур, после чего возгонкой в вакуумной камере удаляется растворитель [51]. Морфология получаемых материалов регулируется изменением скорости замораживания раствора полимера и водородным показателем. Главным преимуществом метода является то, что он не требуется создания высоких температур и отдельной стадии выщелачивания. Но длительное время обработки, относительно большой диаметр волокон и, соответственно, малый размер пор ограничивают использование метода лиофилизации [52].

Метод выщелачивания предусматривает получение раствора полимера с водорастворимыми солями. Полученную смесь заливают в сосуд необходимой формы и выпариванием или лиофилизацией удаляют растворитель. Частицы соли вымывают, что ведет к образованию пористой структуры. Преимуществами данного метода являются простота использования и возможность контроля размером пор. Однако форма пор ограничена кубической формой кристаллов соли, а трудность удаления растворителя из внутренних пор скаффолда ограничивает его толщину [53].

В целом, все методы, основанные на использовании растворителей и высоких температур, обладают несколькими общими недостатками - отсутствие возможности контроля морфологии полученного материала, необходимость в использовании токсичных органических растворителей [54] и применение высоких температур, ограничивающее применимость этих методов для включения биологически активных веществ.

Однако на данный момент существует группа крайне актуальных технологий, направленных на решение данных проблем [53].

1.4 Быстрое прототипирование.

Быстрое прототипирование представляет собой процесс формирования трехмерного объекта практически любой формы по цифровой модели. Данный метод может быть осуществлен разными способами с использованием широкого спектра материалов, однако любой из этих способов базируется на принципе послойного синтеза твердого объекта. В настоящий момент, наиболее применимыми методами для биополимеров являются лазерная стереолитография, селективное лазерное спекание, и 3D-печать [54].

Метод лазерной стереолитографии предложенный в 1980-х годах, позволяет реализовать сложные 3D конструкции для тканевой инженерии напрямую из компьютерной модели [55]. В качестве полимеров, подходящих для лазерной стереолитографии, могут применятся как модифицированные синтетические (поликапролактон, полилактид, полипропилен фумарат), так и некоторые натуральные полимеры (альгинат, хитозан, гиалуроновая кислота, фибрин), которые, однако, нуждаются в добавлении дополнительных агентов для межмолекулярных сшивок [55]. Однако представленный метод не позволяет воспроизвести структуры со связанными порами.

Селективное лазерное спекание, как и предыдущий метод, позволяет получать трехмерные объекты с точно заданной структурой по цифровой модели. Для изготовления скаффолдов данным методом необходим порошковый термопластический материал, способный к плавлению под воздействием инфракрасного лазерного излучения. Такой материал помещают на платформу, после чего лазерный пучок формирует нижний слой заданного объекта. Далее платформа опускается на высоту одного слоя и цикл повторяется [56]. Пространственное разрешение объекта зависит от диаметра лазерного пучка. Полиамид, полистирол и полипропилен являются основными термопластичными материалами для селективного лазерного спекания [57].

3D-печать. На сегодняшний день этот термин используется как синоним быстрого прототипирования, но изначально 3D-печать означала одну конкретную технологию получения трехмерных материалов. Данная

технология заключается в избирательном нанесении полимерного раствора печатающей головкой. Далее на «склеенный» участок трехмерного объекта наносится новый слой полимера и процесс повторяется. Ключевым моментом в данном методе является выбор материала, в качестве которого могут выступать как органические (полимолочная кислота, поликапролактон), так и неорганические вещества (кварц, силикаты, алмаз, графит). Объекты, полученные методом трехмерной печати, обычно имеют значительную пористость и требуют постобработки, что может служить в некоторых случаях недостатком. Еще одним недостатком 3D-печати является несвязанность пор получаемых материалов, что отражается на клеточном метаболизме, так как затрудняет взаимодействие скаффолда с окружающей средой [58].

Таким образом, электроформование является оптимальным способом изготовления волокнистых биодеградируемых скаффолдов, так как позволяет изготавливать скаффолды из материалов различной природы (синтетические полимеры и биополимеры), а также контролировать физико-механические свойства получаемых скаффолдов. Однако сложность подбора растворителей для обоих групп полимеров сужает спектр применения данного метода для изготовления композитных скаффолдов.

1.5 Получение композитных материалов на основе ПМК и желатина

Как было отмечено выше, желатин является подходящим модифицирующим агентом для изделий из ПМК. В связи с этим, предложен ряд методов, позволяющих получить композитные материалы на основе полимолочной кислоты и желатина.

Так, группой Hai предложен метод модифицирования пленок из ПМК, предусматривающий последовательную обработку полимера кислородной плазмой с последующим ковалентным модифицированием рядом силанов и непосредственно нанесением желатина. Полученные материалы обладали

улучшенной гидрофильностью. Кроме того, предложенный метод обработки позволял улучшить адгезию и пролиферацию клеток HUVEC [59].

Основным методом получения гибридных волокнистых скаффолдом на основе ПМК и желатина является электроспиннинг. Для этого, получают прядильный раствор ПМК и желатина во фторированных спиртах (таких, как гексафторизопропанол [60] и трифторэтанол [61]. Полученные скаффолды также обладают высокой гидрофильностью. Кроме того, получение таких материалов позволяло улучшить пролиферацию клеток-предшественников остеобластов и фибробластов.

Группой Nagiah предложен метод получения гибридных скаффолдов на основе ПМК с желатином на поверхности волокон [62]. Данный метод реализован за счет оригинальной конструкции установки для электроспиннинга, предусматривающей две иглы для подачи растворов: более тонкую, через которую подается раствор ПМК и более толстую, через которую подается раствор желатина. В качестве растворителя для обоих полимеров был выбран гексафторизопропанол. Исследования механических свойств, а также адгезии и пролиферации эндотелиальных и гладкомышечных клеток показали перспективность полученного материала для изготовления сосудистых графтов.

Таким образом, возможность применения композитных материалов на основе ПМК и желатина в регенеративной медицине давно исследуется и предложен ряд методов их получения. Однако существующие методы являются многостадийными (в случае ковалентной пришивки), ил требуют применения дорогостоящих растворителей (в случае электроспиннинга раствора ПМК и желатина).

Ранее для поверхностного модифицирования биоразлагаемых полимеров нашей научной группой предложена стратегия «растворитель/нерастворитель», предусматривающая обработку поверхности

полимера смесью органических растворителей в определенных соотношениях [63,64]. Подобная обработка позволяет получить на поверхности полимера активный слой, способный захватывать биологически активные молекулы из внешней среды. Существенным преимуществом данного подхода является тот факт, что он не требует специальной подготовки и дополнительного дорогостоящего оборудования, а также не ведет к нарушению структуры волокон скаффолда.

2 Материалы и методы.

2.1 Материалы.

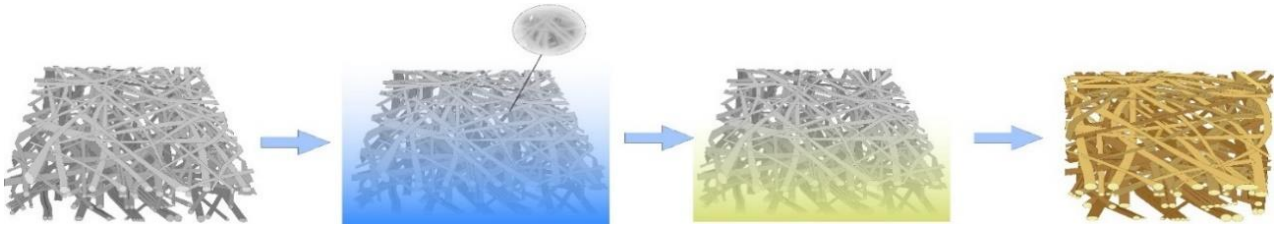
При проведении исследований использовали следующие материалы: полимолочная кислота ПМК-18 (Purac, Нидерланды), желатин (Sigma, США), таблетки натрий-фосфатного буфера (PBS) (pH=7,4). Все использованные растворители были класса ACS и использованы без дополнительной очистки.

2.2 Изготовление скаффолдов.

Нетканые волокнистые скаффолды получали методом электроформования из 7% (масс.) раствора поли-(L-молочной) кислоты PL-18 в трихлорметане на установке NANON-01A® (MECC, Япония) на цилиндрическом стальном коллекторе диаметром 100 мм, вращающемся на скорости 50 об/мин, при следующих технологических параметрах: расстояние между иглой и коллектором 110 мм, скорость подачи раствора 3 мл/ч, напряжение 15 кВ.

2.3 Модифицирование поверхности скаффолдов.

Модифицирование изготовленных скаффолдов проводили с использованием ранее предложенной стратегии «хороший/плохой растворитель» [63,64] в два этапа: вначале скаффолды размером 30 на 10 мм обрабатывали в течение 10 мин смесью толуол/этанол в объемном соотношении 1/9. Далее материал погружали в раствор желатина в натрий-фосфатном буфере концентрацией 0,005 мг/мл на 5 мин, 10 мин, 30 мин, 1 ч. После чего, полученные образцы тщательно промывали и высушивали в вакууме течение 24 ч.



Материал на основе ПМК | Обработка смесью толуол/этанол | Выдерживание в растворе PBS-желатин | Композитный материал ПМК-желатин

5. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

Темой магистерской диссертации является исследование влияния тканеинженерных скаффолдов на первичные макрофаги человека. Данный проект направлен на изучение иммуномодулирующих свойств биоматериалов для регенеративной медицины. Исследование проводится с использованием первичных клеток (CD14+ моноцитов), выделенных из крови индивидуальных доноров, и клеток HUVEC. Полученные данные позволяют не только выявить общие тренды в клеточно-опосредованном иммунном ответе, но и оценить индивидуальные реакции человека на биоматериал.

Целью раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» является определение перспективности и успешности исследования, оценка его эффективности, уровня возможных рисков, разработка механизма управления ходом исследования и сопровождения конкретных проектных решений на этапе реализации.

Для достижения обозначенной цели необходимо решить следующие задачи:

- оценить коммерческий и инновационный потенциал исследования;
- осуществить планирование этапов выполнения исследования;
- рассчитать бюджет проекта;
- произвести оценку ресурсной, финансовой и экономической эффективности исследования.

Данное исследование позволяет решить вопрос о том, какой из создаваемых тканеинженерных скаффолдов является наиболее биосовместимым и не вызывает отторжения иммунной системой пациентов.

5.1 Оценка коммерческого и инновационного потенциала НТИ

5.1.1 Потенциальные потребители проекта. Инициализация проекта и его технико-экономическое обоснование

Потенциальными потребителями исследования являются научные группы и компании, занимающиеся разработкой и созданием новых биоматериалов для регенеративной медицины. Данный проект был выполнен и профинансирован в рамках совместных исследований, проводимых Томским политехническим университетом и Университетом Гейдельберга (Медицинский факультет Маннгейма, Отдел врожденного иммунитета и иммунной толерантности) по исследованию свойств тканеинженерных скаффолдов.

Использование первичных клеток пациента для проведения диагностики перед имплантацией отвечает главным принципам персонализированной медицины, целью которой является обеспечение наиболее подходящего типа лечения для определенного человека с учетом его анамнеза. Разработанная для исследования иммуномодулирующих свойств тканеинженерных скаффолдов *in vitro* тест-система может также использоваться для выбора наименее иммунотоксичного материала в стоматологии, ортопедии, вертебрологии, офтальмологии и др. Поэтому потенциальными потребителями исследования также являются компании, предоставляющие диагностические услуги, и медицинские учреждения, так как установка имплантатов/искусственных трансплантатов осуществляется непосредственно в клиниках. Как рынок диагностичеких услуг, так и рынок биоматериалов являются динамично развивающимися рынками: прогнозируемый рост составляет порядка 15-20% в год. По оценкам BusinesStat, объем рынка диагностических услуг в России в 2015 году составил 68,9 млрд. руб., объем рынка медицинских услуг в России в 2015 году составил 2400 млрд. руб., объем рынка имплантатов - 6,5 млрд. руб.

(при этом объем мирового рынка биоматериалов, согласно Biomaterials Market – Global Forecasts to 2017, - $88,4 млрд.) [72].

Таким образом, сегментировать рынок можно по типу приложения биоматериала и способу исследования биосовместимости (рисунок 5).

		Способ исследования биосовместимости					
		In vivo токсичность	*In vitro* цитотоксичность	Генотоксичность, канцерогенность и токсическое действие на репродуктивную функцию	Исследование изделий, соприкасающихся с кровью	Исследование иммунотоксичности	Исследование биосовместимости на клетках реципиента
Рыночные сегменты по типу биоматериала	Тканевая инженерия						
	Стоматология						
	Ортопедия						
	Сердечно-сосудистая хирургия						

	Диагностические услуги		Медицинские услуги		Производители биоматериалов

Рисунок 5 - Карта сегментирования рынка

Разработанная нами тест-система перспективна для продвижения сразу на нескольких ключевых сегментах рынка, а именно для персонализированного исследования биосовместимости материалов для тканевой инженерии, стоматологии, ортопедии, сердечно-сосудистой хирургии компаниями-производителями биоматериалов, а также для продажи компаниям, оказывающим медицинские и диагностические услуги.

В данной части выпускной квалификационной работы будет приведен расчет затрат на реализацию исследования, выполнен анализ конкурентных технических решений и возможных альтернатив проведения НТИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения [73].

5.1.2 Анализ конкурентных технических решений и возможных альтернатив проведения НТИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

Оценим конкурентоспособность результатов нашего исследования на существующем рынке. Для этого воспользуемся оценочной картой сравнения, технологией QuaD и SWOT-анализом (табл. 6-8). В качестве конкурирующих разработок выберем наиболее распространенные виды исследований биосовместимости - исследования на животных (*in vivo*), и *in vitro* тест на токсичность (МТТ-тест).

Таблица 7 - Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		$Б_ф$	$Б_{к1}$	$Б_{к2}$	$К_ф$	$К_{к1}$	$К_{к2}$
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Повышение уровня жизни пациента после операции	0,12	5	3	5	0,6	0,36	0,6
2. Персонализованность	0,12	5	0	0	0,6	0	0
3. Воспроизводимость	0,1	4	5	3	0,4	0,5	0,3
4. Надежность	0,05	4	4	4	0,2	0,2	0,2
5. Возможность переноса результатов на человека	0,12	5	1	2	0,6	0,12	0,24
6. Простота в исполнении	0,05	5	5	4	0,25	0,25	0,2
Экономические критерии оценки эффективности							
1. Конкурентоспособность продукта	0,05	5	4	4	0,25	0,2	0,2
2. Уровень проникновения на рынок	0,05	0	5	5	0	0,25	0,25
3. Цена	0,05	3	5	4	0,15	0,25	0,2

4. Предполагаемый срок эксплуатации	0,09	5	4	4	0,45	0,36	0,36
5. Финансирование научной разработки	0,09	5	4	4	0,45	0,36	0,36
6. Срок выхода на рынок	0,05	5	5	5	0,25	0,25	0,25
7. Наличие сертификации разработки	0,06	4	5	5	0,24	0,3	0,3
Итого	**1**	**55**	**50**	**49**	**4,44**	**3,4**	**3,46**

$К_1$ – МТТ тест

$К_2$ – *in vivo* исследования

Таблица 8 - Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	**Вес критерия**	**Баллы**	**Максимальный балл**	**Относительное значение** (3/4)	**Средневзвешенное значение** (5x2)
1	2	3	4	5	

Показатели оценки качества разработки					
1. Повышение уровня жизни пациента после операции	0,12	100	100	1	0,12
2. Персонализованность	0,12	100	100	1	0,12
3. Воспроизводимость	0,1	80	100	0,8	0,08
4. Надежность	0,05	90	100	0,9	0,045
5. Возможность переноса результатов на человека	0,12	100	100	1	0,12
6. Простота в исполнении	0,05	60	100	0,6	0,03
Показатели оценки коммерческого потенциала разработки					
8. Конкурентоспособность продукта	0,05	95	100	0,95	0,0475
9. Уровень проникновения на рынок	0,05	10	100	0,1	0,005
10. Перспективность рынка	0,05	100	100	1	0,05
11. Цена	0,09	70	100	0,7	0,063

12. Финансовая эффективность научной разработки	0,09	80	100	0,8	0,072
13. Срок выхода на рынок	0,05	80	100	0,8	0,04
14. Наличие сертификации разработки	0,06	70	100	0,7	0,042
Итого	**1**	**1035**	**1300**	**10,35**	**0,8345**

Таблица 9 - SWOT-анализ

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Создание уникальной персонализированной тест-системы для оценки биосовместимости материалов С2. Наличие бюджетного финансирования С4. Доступ к банку крови для выделения	**Слабые стороны научно-исследовательского проекта:** Сл1. Зависимость в выполнении данной работы от специального оборудования Сл2. Высокая цена на реактивы Сл3. Большой срок поставок реактивов используемых при проведении научного исследования (многие реактивы портятся в

	первичных клеток доноров С5. Наличие грантового финансирования	дороге, например, антитела) Сл4. Отсутствие интеллектуальной собственности.
Возможности: В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ В2. Использование оборудования кафедры БИОХ В3. Сотрудничество с НИИ Онкологии, ТГУ В4. Сотрудничество с Университетом г.Гейдельберг В5. Участие в европейских грантах В6. Апробация тест-системы на собственных биоматериалах	СиВ 1. Создание уникальной персонализированной тест-системы для оценки биосовместимости материалов с использованием инфраструктуры ТПУ, и ее апробация на собственных биоматериалах. 2. Расширение грантового финансирования за счет российских и зарубежных партнеров.	СЛиВ 1. Выполнение работ на базе Университета г.Гейдельберг позволяет решить вопрос отсутствия дорогостоящего оборудования и поставки реактивов. 2. Участие в европейских грантах дает возможность получения дополнительного финансирования для приобретения реактивов.
Угрозы:	СиУ	**СЛиУ** 1. Отсутствие спроса не будет компенсировать

У1. Отсутствие спроса на новые технологии у производства У2. Развитая конкуренция технологий производства У4. Введение дополнительных государственных требований к сертификации продукции У5. Отсутствие предприятия в Томске, которое могло бы провести масштабирование и опробовать методику.	1. Создание спроса на новые технологии в производства. 2. Доработка методики по ее конкурентным преимуществам. 3. Сертификация/ патентование продукции 4. Продвижение методики на заявленных рыночных сегментах.	затраты на реактивы и специальное оборудование. 2. Потеря исключительных прав на интеллектуальную собственность/создание конкурентами подобной тест-системы.

Рассмотрим возможные способы проведения исследования (табл. 9). Для этого построим морфологическую матрицу проекта. Морфологическая матрица отражает 3 различных варианта проведения исследования, которые различаются по методу выделения CD14+ моноцитов, набору анализируемых маркеров, способу анализа и времени отбора проб.

Таблица 10 - Морфологическая матрица для возможных вариантов проведения анализа

	1	**2**	**3**
А. Метод выделения CD14+ моноцитов	Из цельной несконцентрированной крови	Из цельной несконцентрированной крови	Из эритроцитарно-лейкоцитарной массы
Б. Набор анализируемых маркеров	TNFα, IL6, IL8, IL1β, IL10, IL1ra, IL12, IL17, CCL18, TGFβ, MMP7, MMP9	TNFα, IL6, IL8, IL1β, IL10, IL1ra, CCL18, TGFβ, MMP7, MMP9, YKL39, YKL40, SI-CLP	TNFα, IL6, IL8, IL1β, IL10, IL1ra, CCL18, TGFβ, MMP7, MMP9, YKL40
В. Способ анализа	ELISA	ELISA (11 маркеров) /qRT-PCR (2 маркера)	ELISA (10 маркеров) /qRT-PCR (1 маркер)
Г. Время отбора супернатантов	6 ч, 24 ч, 48 ч, 6 дней - все цитокины	6 ч, 24 ч, 6 дней - только TNFα, остальные на 6 день	6 ч, 6 дней - только TNFα, остальные на 6 день

Метод выделения CD14+ моноцитов зависит от используемой банками крови пробоподготовки. Так, большинство российских банков крови используют обычное центрифугирование или отдают цельную кровь с добавлением антикоагулянтов. В случае такой пробоподготовки увеличивается расход реагентов, необходимых для выделения моноцитов (поскольку для выделения необходимого количества клеток нужно обработать больший объем крови), и затраты временных ресурсов. Немецкий

Красный крест использует специальную технологию концентрирования цельной крови, поэтому для исследований предоставляется эритроцитарно-лейкоцитарная масса. В этом случае из меньшего объема с меньшим расходом реагентов можно выделить такое же количество моноцитов. Для оценки биосовместимости можно использовать различные наборы маркеров. Набор может быть шире или уже, следует ориентироваться на предполагаемые результаты. Широкий набор может дать больше информации, однако может оказаться и так, что дополнительные маркеры неспецифичны. Исследовать маркеры можно на уровне белка (ELISA) или на уровне экспрессии гена (qRT-PCR). Наборы для ELISA стоят дороже, однако исследование на уровне белка всегда более предпочтительно. Можно использовать комбинированный подход. Образцы для исследования можно отбирать в разные моменты времени, таким образом исследовать динамику секреции цитокинов, или выбрать критическую временную точку. От этого зависит расход реагентов. Для некоторых цитокинов ранние временные точки критичны, поэтому просто невозможно ограничиться одним измерением. Различные варианты исполнения представлены в таблице 5.4. Предложенные варианты реализации проекта будут далее оценены с позиции ресурсоэффективности.

Выводы: Таким образом, разработанная тест-система является конкурентноспособной и превосходит существующие аналоги по таким параметрам, как персонализированность и возможность переноса результатов на человека.

Конкурентными преимуществами можно назвать:

- Использование первичных клеток реципиента для диагностики (персонализированность);
- Использование человеческих клеток для исследований (возможность переноса результатов на человека);

- Использование данной тест-системы для подбора оптимального материала имплантата (повышение качества жизни пациента в послеоперационный период);

Однако, разработанная тест-система уступает конкурентам в отношении стоимости, воспроизводимости и уровня проникновения на рынок. Отсутствие воспроизводимости связано с тем, что человеческий организм - динамическая система, соответственно, клетки, отобранные в разные моменты времени, могут по-разному реагировать на биоматериал. Высокая стоимость компенсируется качеством диагностики, а уровень проникновения на рынок - вопрос времени.

Рассчитанное с использованием оценочной карты сравнения значение показателя $П_{ср}$ равно 83,45 и попадает в интервал от 80 до 100, что говорит о том, что представленная разработка является перспективной, а проведенное исследование качественным. Потенциальное инвестирование должно быть направлено на снижение стоимости конечного продукта путем масштабирования исследований.

SWOT-анализ показал, что мы обладаем достаточными ресурсами для выполнения исследования, однако нужно направить усилия на создание интеллектуальной собственности (патентов), чтобы сделать проект более привлекательным для инвесторов, и на популяризацию/продвижение результатов исследования.

Осуществим планирование исследования.

5.2 Планирование исследования

Обозначим основные этапы исследования и их стоимость (таблица 10).

Таблица 11 - Структура работ в рамках научного исследования

Этапы работы	**Исполнители**	**Загрузка исполнителей**	**Стоимость этапа**

1) Составление и утверждение ТЗ	НР1, НР2, НР3, И	НР1 – 100% НР2 – 100% НР3 – 100% И – 10%	100000
2) Изучение новейшей научной литературы по теме исследования, проведение патентного поиска	НР1, НР2, НР3, И	НР1 – 10% НР2 – 10% НР3 – 10% И – 100%	100000
3) Проведение экспериментов	И	И – 100%	9250000
4) Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями (обсуждение результатов)	НР1, НР2, НР3, И	НР1 – 30% НР2 – 30% НР3 – 30% И – 100%	200000
5) Подготовка научной статьи по теме проведенного исследования	НР1, НР2, НР3, И	НР1 – 30% НР2 – 30% НР3 – 30% И – 100%	150000
6) Подготовка отчета по грантам, из которых осуществлялось финансирование	НР1, НР2, НР3, И	НР1 – 50% НР2 – 50% НР3 – 50% И – 50%	150000
7) Написание и оформление магистерской диссертации	НР1, НР2, НР3, И	НР1 – 100% НР2 – 10% НР3 – 10% И – 100%	50000

НР1 – научный руководитель 1

НР2 – научный руководитель 2

НР3 – научный руководитель 4

И – исполнитель

Ожидаемая трудоемкость выполнения:

$$t_{\text{ож}i} = \frac{3t_{mini} + 2t_{maxi}}{5}$$

Продолжительность каждой работы в рабочих днях:

$$T_{pi} = \frac{t_{\text{ож}i}}{\text{Ч}_i}$$

Коэффициент календарности определяется по следующей формуле:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{\text{Т}_{\text{кал}} - \text{Т}_{\text{вых}} - \text{Т}_{\text{пр}}} = \frac{366}{366 - 66} = 1{,}22$$

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}}$$

Таблица 12 - Трудоемкость работ

№	Наименование работ	Трудоемкость работ									Исполнители		
		t_{min},			t_{max},			$t_{\text{ож}i}$,					
		чел-дни			чел-дни			чел-дни					
		Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.	Исп.
1	Составление и утверждение ТЗ	3 3 3 0,3	3 3 3 0,3	3 3 3 0,3	4 4 4 0,4	4 4 4 0,4	4 4 4 0,4	3,4 3,4 3,4 0,34	3,4 3,4 3,4 0,34	3,4 3,4 3,4 0,34	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
2	Изучение новейшей научной литературы по теме	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1,4 1,4 1,4	1,4 1,4 1,4	1,4 1,4 1,4	1,16 1,16	1,16 1,16	1,16 1,16	НР1 НР2	НР1 НР2	НР1 НР2

	исследования, проведение патентного поиска	10	10	10	14	14	14	1,16 11,6	1,16 11,6	1,16 11,6	НР3 И	НР3 И	НР3 И
3	Проведение экспериментов	65	60	50	75	70	60	69	64	54	И	И	И
4	Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями (обсуждение результатов)	3 3 3 10	3 3 3 10	3 3 3 10	4,2 4,2 4,2 14	4,2 4,2 4,2 14	4,2 4,2 4,2 14	3,48 3,48 3,38 11,6	3,48 3,48 3,38 11,6	3,48 3,48 3,38 11,6	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
5	Подготовка научной статьи по теме проведенного исследования	3 3 3 10	3 3 3 10	3 3 3 10	6,3 6,3 6,3 21	6,3 6,3 6,3 21	6,3 6,3 6,3 21	4,32 4,32 4,32 14,4	4,32 4,32 4,32 14,4	4,32 4,32 4,32 14,4	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
6	Подготовка отчета по грантам, из которых осуществлялось финансирование	5 5 5 10	5 5 5 10	5 5 5 10	7 7 7 14	7 7 7 14	7 7 7 14	5,8 5,8 5,8 11,6	5,8 5,8 5,8 11,6	5,8 5,8 5,8 11,6	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
7	Написание и защита магистерской диссертации	10 1 1 10	10 1 1 10	10 1 1 10	14 1,4 1,4 14	14 1,4 1,4 14	14 1,4 1,4 14	11,6 1,6 1,6	11,6 1,6 1,6	11,6 1,6 1,6	НР1 НР2	НР1 НР2	НР1 НР2

								11,6	11,6	11,6	НР3 И	НР3 И	НР3 И

НР1 – научный руководитель 1

НР2 – научный руководитель 2

НР3 – научный руководитель 4

И – исполнитель

Таблица 13 - Временные показатели проведения научного исследования

№	Наименование работ	Длительность работ в рабочих днях,Tpi			Длительность работ в календарных днях,Tki			Исполнители		
		Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3
1	Составление и утверждение ТЗ	3,4 3,4 3,4 0,34	3,4 3,4 3,4 0,34	3,4 3,4 3,4 0,34	4,15 4,15 4,15 0,41	4,15 4,15 4,15 0,41	4,15 4,15 4,15 0,41	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
2	Изучение новейшей научной литературы по теме исследования, проведение патентного поиска	1,16 1,16 1,16 11,6	1,16 1,16 1,16 11,6	1,16 1,16 1,16 11,6	1,42 1,42 1,42 14,15	1,42 1,42 1,42 14,15	1,42 1,42 1,42 14,15	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
3	Проведение экспериментов	69	64	54	84,18	78,08	65,88	И	И	И
4	Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	3,48 3,48 3,38 11,6	3,48 3,48 3,38 11,6	3,48 3,48 3,38 11,6	4,2 4,2 4,2 14,15	4,2 4,2 4,2 14,15	4,2 4,2 4,2	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И

	(обсуждение результатов)						14,15			
5	Подготовка научной статьи по теме проведенного исследования	4,32 4,32 4,32 14,4	4,32 4,32 4,32 14,4	4,32 4,32 4,32 14,4	5,3 5,3 5,3 17,6	5,3 5,3 5,3 17,6	5,3 5,3 5,3 17,6	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
6	Подготовка отчета по грантам, из которых осуществлялось финансирование	5,8 5,8 5,8 11,6	5,8 5,8 5,8 11,6	5,8 5,8 5,8 11,6	7,1 7,1 7,1 14,1	7,1 7,1 7,1 14,1	7,1 7,1 7,1 14,1	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И
7	Написание и защита магистерской диссертации	11,6 1,6 1,6 11,6	11,6 1,6 1,6 11,6	11,6 1,6 1,6 11,6	14,1 1,42 1,42 14,1	14,1 1,42 1,42 14,1	14,1 1,42 1,42 14,1	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И	НР1 НР2 НР3 И

НР1 – научный руководитель 1

НР2 – научный руководитель 2

НР3 – научный руководитель 4

И – исполнитель

Календарный план-график построенный для максимального по длительности первого варианта исполнения работ рамках научно-исследовательского проекта приведен на.

Выводы: На основании планирования научного исследования (НИ) была составлена рабочая группа НИ, распределены работы для исполнителей НИ, определена трудоемкость выполнения работ. Согласно календарному плану мы укладываемся в требуемые сроки проведения работ.

№ работ	Вид работ	Исполнители	$T_{кi}$, кал. Дн.	Продолжительность выполнения работ														
				янв.	февр.			март			апрель			май			июнь	
				3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2
1	Составление и утверждение ТЗ	НР1 НР2 НР3 И	4,15 4,15 4,15 0,41															
2	Изучение новейшей научной литературы по теме исследования, проведение патентного поиска	НР1 НР2 НР3 И	1,42 1,42 1,42 14,15															
3	Проведение экспериментов	И	65,88															
4	Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями (обсуждение результатов)	НР1 НР2 НР3 И	4,2 4,2 4,2 14,15															
5	Подготовка научной статьи по теме проведенного исследования	НР1 НР2 НР3 И	5,3 5,3 5,3 17,6															

6	Подготовка отчета по грантам, из которых осуществлялось финансирование	НР1 НР2 НР3 И	7,1 7,1 7,1 14,1															
7	Написание и защита магистерской диссертации	НР1 НР2 НР3 И	14,1 1,42 1,42 14,1															

Научный руководитель 1 Научный руководитель 2 Научный руководитель 3 Исполнитель

Рисунок 22 - Календарный план-график проведения исследования (Диаграмма Гантта)

5.3 Расчет бюджета исследования

Составим бюджет исследования. Для этого рассчитаем материальные затраты, затраты на оборудование и заработную плату для описанных ранее различных вариантов исполнения проекта.

Таблица 14 - Материальные затраты

Наименование	Единица измерения	Количество			Цена за ед., руб.			Затраты на материалы, (**З**$_{м}$), руб.		
		Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3
PBS	л	12	10	8	728,8	728,8	728,8	8746	7288	5830
Биокол	мл	500	500	250	8,3	8,3	8,3	4137,4	4137,4	2068,7
Перкол	л	1	1	1	26231,7	26231,7	26231,7	26231,7	26231,7	26231,7
10× сбалансированный солевой раствор Эрла	мл	500	500	250	12,6	12,6	12,6	6300	6300	3150

Минимально необходимая среда Игла	мл	500	500	250	8,8	8,8	8,8	4400	4400	2200
Набор CD14 микросфер и колонок	шт	1	1	1	73620	73620	73620	73620	73620	73620
X-VIVO 10	л	1	1	1	10000	10000	10000	10000	10000	10000
m-CSF	мкг	10	10	10	1177,92	1177,92	1177,92	11779,2	11779,2	11779,2
IL4	мкг	20	20	20	588,96	588,96	588,96	11779,2	11779,2	11779,2
IFNγ	мкг	100	100	100	117,792	117,792	117,792	11779,2	11779,2	11779,2
Alamar blue	г	5	5	5	2000	2000	2000	10000	10000	10000
TNFα ELISA набор (15 плашек)	шт	1	1	1	51165,9	51165,9	51165,9	51165,9	51165,9	51165,9
IL6 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
IL8 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
IL1β ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1

IL10 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
IL1ra ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
CCL18 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
TGFβ ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
IL12 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	0	0	18773,1	0	0	56319,3	0	0
IL17 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	0	0	18773,1	0	0	56319,3	0	0
MMP7 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
MMP9 ELISA набор (5 плашек)	шт	3	3	1	18773,1	18773,1	18773,1	56319,3	56319,3	18773,1
YKL40 ELISA набор (5 плашек)	шт	0	3	0	0	18773,1	0	0	56319,3	0

Tween® 20	мл	100	100	100	45	45	45	4500	4500	2250
BSA	г	100	100	100	336,5	336,5	336,5	33650	33650	33650
E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	шт	1	1	1	34737	34737	34737	34737	34737	34737
Трипсин/ЭДТА	мл	100	100	100	9,71784	9,71784	9,71784	971,784	971,784	971,784
RevertAid H Minus First Strand Synthesis Kit	кол-во реакций	100	100	100	25619	25619	25619	25619	25619	25619
TaqMan CHI3L1 assay	кол-во реакций	0	0	250	0	0	54,1	0	0	13546
TaqMan CHI3L2 assay	кол-во реакций	0	250	0	0	54,18432	0	0	13546	0
TaqMan CHI3D1 assay	кол-во реа	0	250	0	0	54,18432	0	0	13546	0

	кций									
GAPDH	кол-во реакций	250	250	250	58,896	54,18432	54,18432	14724	13546	13546
EGM-2	л	1	1	1	10000	10000	10000	10000	10000	10000
FCS	мл	500	500	500	15	15	15	7500	7500	7500
EBM	л	1	1	1	10000	10000	10000	10000	10000	10000
Corning® Matrigel® Growth Factor Reduced	мл	5	5	5	2986,78	2986,78	2986,78	14933	14933	14933
YKL40	мкг	100	100	100	117,792	117,792	117,792	11779	11779	11779
Этанол	л	1	1	1	12000	12000	12000	12000	12000	12000
Меркаптоэтанол	мл	250	250	250	34	34	34	8500	8500	8500
ДМСО	мл	100	100	100	70	70	70	7000	7000	7000
Пробирки "Eppendorf"	уп	1	1	1	5000	5000	5000	5000	5000	5000

Пробирки "Eppendorf", очищенные от РНКазы	уп	1	1	1	5079,78	5079,78	5079,78	5079,78	5079,78	5079,78
Конические пробирки, 50 мл	уп	1	1	1	22725,5	22725,5	22725,5	22725,5	22725,5	22725,5
Конические пробирки, 15 мл	уп	1	1	1	16362,36	16362,36	16362,36	16362,36	16362,36	16362,36
Серологическая пипетка, 5 мл	уп	1	1	1	6700	6700	6700	6700	6700	6700
Серологическая пипетка, 10 мл	уп	1	1	1	6557,93	6557,93	6557,93	6557,93	6557,93	6557,93
Серологическая пипетка, 25 мл	уп	1	1	1	14933,9	14933,9	14933,9	14933,9	14933,9	14933,9
Пипетка Пастера, полипропилен	уп	1	1	1	7300	7300	7300	7300	7300	7300
12-луночный планшет	уп	1	1	1	5000	5000	5000	5000	5000	5000
96-луночный планшет	уп	1	1	1	4700	4700	4700	4700	4700	4700

96-луночный планшет для ELISA	уп	5	5	5	23558,4	23558,4	23558,4	117792	117792	117792
ELISA наклейки для планшета	уп	1	1	1	5153,4	5153,4	5153,4	5153,4	5153,4	5153,4
ELISA емкости для антител	уп	1	1	1	3246,5	3246,5	3246,5	3246,5	3246,5	3246,5
1-канальная автоматическая пипетка Eppendorf Research Plus, 100-1000 мкл	шт	1	1	1	15400	15400	15400	15400	15400	15400
1-канальная автоматическая пипетка Eppendorf Research Plus, 10-100 мкл	шт	1	1	1	15400	15400	15400	15400	15400	15400
1-канальная автоматическая пипетка Eppendorf	шт	1	1	1	15400	15400	15400	15400	15400	15400

Research Plus, 1-10 мкл										
1-канальная автоматическая пипетка Eppendorf Research Plus, 200 мкл	шт	1	1	1	15400	15400	15400	15400	15400	15400
Наконечники универсальные, 100-1000 мкл	уп	10	10	10	2980,287	2980,287	2980,287	29802,87	29802,87	29802,87
Наконечники универсальные, 10-100 мкл	уп	10	10	10	2980,287	2980,287	2980,287	29802,87	29802,87	29802,87
Наконечники универсальные, 1-10 мкл	уп	10	10	10	2980,287	2980,287	2980,287	29802,87	29802,87	29802,87
Наконечники универсальные, 200 мкл	уп	10	10	10	2980,287	2980,287	2980,287	29802,87	29802,87	29802,87
8-канальная автоматическая пипетка Eppendorf Research	шт	1	1	1	53900	53900	53900	53900	53900	53900

Plus, 30-300 мкл										
Штатив для конических пробирок	шт	3	3	3	2000	2000	2000	6000	6000	6000
Штатив для пробирок "Eppendorf"	шт	3	3	3	6500	6500	6500	19500	19500	19500
96-луночный планшет для qRT-PCR	уп	1	1	1	8834,4	8834,4	8834,4	8834,4	8834,4	8834,4
qRT-PCR наклейки для планшета	уп	1	1	1	5153,4	5153,4	5153,4	5153,4	5153,4	5153,4
Перчатки	уп	2	2	2	5000	5000	5000	10000	10000	10000
Мешки для автоклавирования (61 x 30cm)	уп	1	1	1	11492,61	11492,61	11492,61	11492,61	11492,61	11492,61
Вакуумный пистолет для пипеток	шт	1	1	1	21426,9	21426,9	21426,9	21426,9	21426,9	21426,9
Пипетка Пастера, стекло	уп	1	1	1	6363,14	6363,14	6363,14	6363,14	6363,14	6363,14
Parafilm	уп	1	1	1	2500	2500	2500	2500	2500	2500

Итого	1552782	1522377	1106996
Цены на материалы указаны согласно представленным на сайтах компаний-производителей реактивов: www.sigmaaldrich.com, www.peprotech.com, www.thermofisher.com, www.rndsystems.com, www.miltenyibiotec.com, www.eppendorf.com, www.omegabiotek.com			

Расчет затрат на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ включают все расходы, связанные с приобретением оборудования, необходимого для проведения работ по теме. Все расчеты сводятся в табл. 15.

Таблица 15 - Расчет затрат на приобретение оборудования

№ п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, руб.	Общая стоимость оборудования, руб.
1	Tecan Infinite® 200 PRO series микропланшетный ридер	1 шт	147240	147240
2	Rosher Light Cycler 480 амплификатор	1 шт	368100	368100

3	Центрифуга Rotina 480	1 шт	383000	383000
4	Ламинарный шкаф	1 шт	1500000	1500000
5	Центрифуга Eppendorf 5415R	1 шт	213129,9	213129,9
6	Низкотемпературные морозильники -80 ThermoFisher	1 шт	736200	736200
7	Низкотемпературные морозильники -30 ThermoFisher	1 шт	368100	368100
8	Холодильник +1..+8 ThermoFisher	1 шт	184050	184050
9	Термошейкер Eppendorf Thermomixer C	1 шт	227255	227255
10	Микроскоп Axiovert 100, Carl Zeiss	1 шт	147240	147240
11	Milli-Q® Integral Water Purification System (система очистки воды)	1 шт	450000	450000
12	Vortex	1 шт	15000	15000
13	CO_2-инкубатор	1 шт	360000	360000

14	Вакуумный насос	1 шт	100000	100000
	Итого			5199314,9
Цены на оборудование указаны согласно коммерческим предложениям компаний-производителей: Lifesciences, Rosher, Rotina, Eppendorf, ThermoFisher, Carl Zeiss, MerkMillipore				

Рассчитаем амортизационные отчисления на оборудование. Затраты определяются в виде амортизации по формуле:

$$\text{Е}_{\text{ам}} = \frac{\sum K_{\text{об}i} \cdot H_{\text{об}i} \cdot T_{\text{об}i}}{365 \cdot 100},$$

где $К_{обi}$ –стоимость ед. прибора или оборудования, руб.;

$Н_{амi}$-норма амортизации прибора или оборудования, %;

$Т_{обi}$ –время использования оборудования, дни.

Расчет затрат на электроэнергию определяется по формуле:

$$E_{\text{э}} = \sum N_i \cdot T_{\text{э}} \cdot \text{Ц}_{\text{э}},$$

где N_i - мощность электроприборов по паспорту, кВт;

$Т_э$ - время использования электрооборудования, час;

$Ц_э$ - цена одного кВт*ч, руб.

$Ц_э$ – 3 руб/ кВт*ч

Таблица 16 - Расчет затрат на амортизацию оборудования

№	Наименование оборудования	Цена единицы оборудования,Кобі,руб	Время использования,Тобі, дни	Норма амортизации, Намі, %	Мощность прибора, N_i, Вт	Сумма амортизацион-ных отчислений, Еам, руб.	Сумма затрат на электроэнергию, $Е_э$, руб
1	Tecan Infinite® 200 PRO series микропланшетный ридер	147240	1	15%	200	60,5	14,4
2	Rosher Light Cycler 480 амплификатор	368100	7	15%	500	1058,9	252
3	Центрифуга Rotina 480	383000	7	15%	700	1101,8	352,8
4	Ламинарный шкаф	1500000	30	15%	350	18493,1	756
5	Центрифуга Eppendorf 5415R	213129,9	7	15%	200	613,1	100,8
6	Низкотемпературные	736200	65	15%	800	19665,6	3744

	морозильники -80 ThermoFisher						
7	Низкотемпературные морозильники -30 ThermoFisher	368100	65	15%	500	9832,8	2340
8	Холодильник +1..+8 ThermoFisher	184050	65	15%	300	4916,4	1404
9	Термошейкер Eppendorf Thermomixer C	227255	14	15%	300	1307,5	302,4
10	Микроскоп Axiovert 100, Carl Zeiss	147240	7	15%	100	423,6	50,4
11	Milli-Q® Integral Water Purification System (система очистки воды)	450000	65	15%	300	12020,5	1404
12	CO_2-инкубатор	360000	65	15%	300	9616,4	1404
13	Вакуумный насос	100000	7	15%	500	287,7	252

	Итого					79398	12376,8

Рассчитаем заработную плату исполнителей проекта с учетом того, что руководитель из Университета Гейдельберга получает зарплату от своего университета.

Таблица 17 - Основная заработная плата исполнителей темы

Исполнители	Исполнители по категориям	Трудо-емкость, чел.-дн.,Тр			Заработная плата, приходящаяся на один чел.-дн., руб.з дн			Всего заработная плата по тарифу (окладам), руб. (осн.)		
		Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3	Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3	Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3
Руководитель 1	профессор, д.х.н.	36,3	36,3	36,3	4023,8	4023,8	4023,8	146093,3	146093,3	146093,3
Руководитель 2	доцент, к.ф.-м.н.	23,6	23,6	23,6	2816,7	2816,7	2816,7	66390,0	66390,0	66390,0
Исполнитель	инженер	154,4	148,3	136,1	627,7	627,7	627,7	96905,8	93076,7	85418,6
Итого								309389,0	305559,9	297901,8

$$З_{зп} = З_{осн} + З_{доп},$$

где $З_{осн}$ – основная заработная плата;

$З_{доп}$ – дополнительная заработная плата (12% от $З_{осн}$).

Основная заработная плата ($З_{осн}$) руководителя от ТПУ рассчитывается по следующей формуле:

$$З_{осн} = З_{дн} \cdot T_p,$$

где $З_{осн}$ – основная заработная плата одного работника;

$Т_р$ – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн.;

$З_{дн}$ – среднедневная заработная плата работника, руб.

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$З_{дн} = \frac{З_м \cdot М}{F_д},$$

где $З_м$ – месячный должностной оклад работника, руб.;

М – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

при отпуске в 48 раб. дней М=10,4 месяца, 6-дневная неделя;

$F_д$ – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дн.

Таблица 18 - Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	**Руководитель (1, 2)**	**Исполнитель**
Календарное число дней	366	366
Количество нерабочих дней	66	66
- выходные дни	52	52
- праздничные дни	14	14
Потери рабочего времени	48	48
- отпуск	48	48
- невыходы по болезни	0	0
Действительный годовой фонд рабочего времени	252	252

Месячный должностной оклад работника:

$$З_м = З_{тс} \cdot (1 + k_р + k_д) \cdot k_р,$$

где $З_{тс}$ – заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{пр}$ – премиальный коэффициент, равный 0,3 (т.е. 30% от $З_{тс}$);

$k_д$ – коэффициент доплат и надбавок составляет примерно 0,2;

$k_р$ – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

5.4.4. Дополнительная заработная плата исполнителей темы

Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы учитывают величину предусмотренных Трудовым кодексом РФ доплат за отклонение от нормальных условий труда, а также выплат, связанных с обеспечением гарантий и компенсаций.

Расчет дополнительной заработной платы ведется по следующей формуле:

$$З_{доп} = k_{доп} \cdot З_{осн},$$

где $k_{доп}$ – коэффициент дополнительной заработной платы (на стадии проектирования принимается равным 0,12).

Таблица 19 – Расчет дополнительной заработной платы исполнителей темы

Заработная плата	**Руководитель 1**			**Руководитель 2**			**Исполнитель**		
	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	
Основная зарплата	146093,3	146093,3	146093,3	66390,0	66390,0	66390,0	96905,8	93076,7	
Дополнительная зарплата	17531,2	17531,2	17531,2	7966,8	7966,8	7966,8	11628,7	11169,2	

Зарплата исполнителя	163624,5	163624,5	163624,5	74356,8	74356,8	74356,8	108534,5	104245,9	9

Таблица 20 – Расчет заработной платы исполнителей темы

Исполнители	Всего заработная плата по тарифу (окладам), руб. (осн.)		
	Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3
Руководитель 1	163624,5	163624,5	163624,5
Руководитель 2	74356,8	74356,8	74356,8
Исполнитель	108534,5	104245,9	95668,8
Итого	346515,8	342227,2	333650,1

5.4.5. Отчисления во внебюджетные фонды

В данной статье расходов отражаются обязательные отчисления по установленным законодательством Российской Федерации нормам органам государственного социального страхования (ФСС), пенсионного фонда (ПФ) и медицинского страхования (ФФОМС) от затрат на оплату труда работников.

Величина отчислений во внебюджетные фонды определяется исходя из следующей формулы:

$$З_{внеб} = k_{внеб} \cdot (З_{осн} + З_{доп}),$$

где $k_{внеб}$ – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды (пенсионный фонд, фонд обязательного медицинского страхования и пр.).

На 2016 г. Размер ставки страховых взносов равен 30% (22% - ПФР, 5,1% - ФОМС, 2,9% - ФСС). Таким образом:

$$З_{внеб}(исп.1) = 0{,}3 \cdot 346515{,}8 = 103954{,}74 \text{ руб.}$$

$$З_{внеб}(исп.2) = 0{,}3 \cdot 342227{,}2 = 102668{,}16 \text{ руб.}$$

$$З_{внеб}(исп.3) = 0{,}3 \cdot 333650{,}1 = 100095{,}03 \text{ руб.}$$

5.4.6. Контрагентные расходы

Контрагентные расходы включают затраты, связанные с выполнением каких-либо работ по теме сторонними организациями (контрагентами, субподрядчиками). В нашем научно-исследовательском проекте контрагентные расходы отсутствовали.

5.4.7 Накладные расходы

Накладные расходы учитывают прочие затраты организации, не попавшие в предыдущие статьи расходов: печать и ксерокопирование материалов исследования, оплата услуг связи, электроэнергии, почтовые и телеграфные расходы, размножение материалов и т.д. Их величина определяется по следующей формуле:

$$З_{накл} = (\text{сумма статей } 1 \div 7) \cdot k_{нр},$$

где $k_{нр}$ – коэффициент, учитывающий накладные расходы.

Величину коэффициента накладных расходов возьмем в размере 16%.

5.4.8. Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта

Рассчитанная величина затрат научно-исследовательской работы (темы) является основой для формирования бюджета затрат проекта, который при формировании договора с заказчиком защищается научной организацией в качестве нижнего предела затрат на разработку научно-технической продукции.

Определение бюджета затрат на научно-исследовательский проект приведен в таблице 21.

Таблица 21 - Расчет бюджета затрат НТИ

Наименование статьи	Сумма, руб.			Примечание
	Исп.1	Исп.2	Исп.3	
1. Материальные затраты НТИ	1552782,0	1522377,0	1106996,0	табл. 13
2. Затраты на специальное оборудование для научных	5199314,9	5199314,9	5199314,9	табл. 14

(экспериментальных) работ				
3. Затраты по заработной плате исполнителей темы	346515,8	342227,2	333650,1	табл. 19
5. Отчисления во внебюджетные фонды	103954,7	102668,2	100095,0	Пункт 5.4.5
6. Затраты на научные и производственные командировки	600000,0	600000,0	600000,0	
7. Контрагентские расходы	0,0	0,0	0,0	Пункт 5.4.6.
8. Накладные расходы	1248410,8	1242654,0	1174409,0	16 % от суммы ст. 1-7
9. Бюджет затрат НТИ	9050978,2	9009241,2	8514465,0	Сумма ст. 1-8

Выводы: Проведенный анализ бюджета НИ показал, что наибольшая сумма материальных затрат составила 9050978,2 руб., что меньше максимально возможной стоимости исследования. При этом, 5199314,9 руб. приходятся на оборудование, которым уже располагает Университет Гейдельберга.

5.4 Определение ресурсной, финансовой, и экономической эффективности исследования

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности научного исследования. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности

Интегральный показатель финансовой эффективности научного исследования получают в ходе оценки бюджета затрат трех (или более) вариантов исполнения научного исследования. Для этого наибольший интегральный показатель реализации технической задачи принимается за базу расчета (как знаменатель), с которым соотносится финансовые значения по всем вариантам исполнения.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{max}},$$

где $I_{\text{финр}}^{\text{исп}i}$ – интегральный финансовый показатель разработки;

Фpi – стоимость i-го варианта исполнения;

Фmax – максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта (в т.ч. аналоги).

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное увеличение бюджета затрат разработки в разах (значение больше единицы), либо соответствующее численное удешевление стоимости разработки в разах (значение меньше единицы, но больше нуля).

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_{i,}$$

где I_{pi} – интегральный показатель ресурсоэффективности для i-го варианта исполнения разработки;

a_i– весовой коэффициент i-го варианта исполнения разработки;

${b_i}^a$, ${b_i}^p$– балльная оценка i-го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;

n – число параметров сравнения.

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности приведен в форме таблицы (табл. 21).

Таблица 21 - Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Объект исследования / Критерии	Весовой коэффициент параметра	Исп.1	Исп.2	Исп.3
1. Использование прямых методов оценки секреции цитокинов	0,2	5	4	4
2. Используемый набор маркеров (модель исследования)	0,2	4	5	5

3. Материалоемкость	0,15	3	3	5
4. Воспроизводимость результатов анализа	0,1	4	4	4
5. Трудоемкость	0,2	3	3	5
6. Конкурентоспособность продукта	0,15	5	5	5
ИТОГО	1	4	4	4,7

Интегральный показатель эффективности вариантов исполнения разработки ($I_{\text{исп}i}$) определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$I_{\text{исп.1}} = \frac{I_{\text{р-исп1}}}{I_{\text{финр}}^{\text{исп1}}}$, $I_{\text{исп.2}} = \frac{I_{\text{р-исп2}}}{I_{\text{финр}}^{\text{исп2}}}$ и т.д.

Сравнение интегрального показателя эффективности вариантов исполнения разработки позволит определить сравнительную эффективность проекта и выбрать наиболее целесообразный вариант из предложенных. Сравнительная эффективность проекта (Эср):

$$\text{Э}_{\text{ср}} = \frac{I_{\text{исп.1}}}{I_{\text{исп.2}}}$$

Таблица 22 - Сравнительная эффективность разработки

№ п/п	Показатели	Исп.1	Исп.2	Исп.3

1	Интегральный финансовый показатель разработки	0,905	0,901	0,851
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	4	4	4,7
3	Интегральный показатель эффективности	4,42	4,44	5,52
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	0,85	0,85	1,00

Вывод: из приведенных расчетов выявлено, что исполнение 3 научного исследования по интегральному показателю ресурсоэффективности вариантов является наиболее выгодным. В этом варианте исполнения затрачивается меньшее количество реактивов за счет более оптимального способа выделения клеток и оптимизации количества исследуемых маркеров.

В ходе разработки данной главы магистерской диссертации были решены следующие задачи:

1. Проведена оценка коммерческого потенциала и эффективности проведения научного исследования с использованием таких инструментов как оценочная карта технология QuaD и SWOT-анализ. Было показано, что наша разработка обладает рядом преимуществ перед аналогами.
2. Составлен план научного исследования, разработан календарный план-график. Согласно разработанному плану, объем запланированных работ является реализуемым за указанные сроки.
3. Рассчитан бюджет научного исследования. Стоимость исследования составляет 8514465,0 руб. и включает приобретение основных

средств – 5199314,9 руб. и пополнение оборотных средств – 3315159,1 руб.;

4. Определена целесообразность проведения научного исследования с точки зрения ресурсоэффективности, а также проведен расчет экономической эффективности и ресурсоэффективности. Согласно приведенным расчетам был выбран наиболее эффективный вариант проведения исследования, который и был реализован в магистерской диссертации.

Таким образом, задачи, поставленные для осуществления цели раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение», выполнены. Показано, что проведенное исследование является эффективным с точки зрения ресурсоэффективности и ресурсосбережения.

Список публикаций студента:

1. Гуляев Р. О., Горенинский С. И., Станкевич К. С., Лисина В. В. Разработка и исследование биодеградируемых скаффолдов на основе полимолочной кислоты с модифицированной поверхностью // Высокие технологии в современной науке и технике: сборник научных трудов VI Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов, Томск, 27-29 Ноября 2017. - Томск: ТПУ, 2017 - С. 185
2. Гуляев Р. О., Горенинский С. И., Станкевич К. С., Лисина В. В. Разработка и исследование биодеградируемых скаффолдов на основе полимолочной кислоты с модифицированной поверхностью // Химия и химическое образование: сборник научных трудов VII Международного симпозиума, Владивосток, 17-20 Октября 2017. - Владивосток: ДВФУ, 2017 - С. 13-14
3. Лисина В. В., Станкевич К. С., Горенинский С. И., Гуляев Р. О. Создание биоразлагаемых материалов с имуномоделирующими свойствами // Высокие технологии в современной науке и технике: сборник научных трудов VI Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов, Томск, 27-29 Ноября 2017. - Томск: ТПУ, 2017 - С. 193
4. Гуляев Р. О., Горенинский С. И., Станкевич К. С., Лисина В. В. Разработка и исследование биодеградируемых скаффолдов на основе полимолочной кислоты с модифицированной поверхностью // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва, Томск, 29 Мая-1 Июня 2017. - Томск: Изд-во ТПУ, 2017 - С. 252-253

5. Лисина В. В., Станкевич К. С., Горенинский С. И., Гуляев Р. О. Создание биоразлагаемых материалов с иммуномодулирующими свойствами // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва, Томск, 29 Мая-1 Июня 2017. - Томск: Изд-во ТПУ, 2017 - С. 260-261
6. Bakibaev A. A. , Gazaliev A. M. , Kabieva S. K. , Fedorchenko V. I. , Guba G. Y. , Smetanina E. I. , Dolgov I. R. , Gulyaev R. O. Polymerization of Lactic Acid Using Microwave and Conventional Heating // Procedia Chemistry. - 2015 - Vol. 15. - p. 97-102
7. Гуляев Р.О. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ С МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ// Менделеевский конкурс студентов химиков: материалы 28 менделеевской школы конференции молодых ученых, Новосибирск, 13-18 Мая 2018.- Новосибирск: Из-во НГУ, 2018-С. 77
8. Гуляев Р. О., Горенинский С. И., Станкевич К. С., Лисина В. В. Разработка и исследование композитных скаффолдов из ополимолочной кислоты с модифицированной поверхностью // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XIX Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва, Томск, 21-24 Мая 2018. - Томск: Изд-во ТПУ, 2018 - С. 212-213